

Summario:

Fontes, Drs. A. e Cunha, J. Barbosa da. Algumas observações sobre o bacillo da tuberculose collocado em condições experimentaes proximas ás condições saprophyticas.....	73
Figueiredo, Dr. C. Burle de. Sobre as lesões do pancreas de boi produzidas pelo EURYTREMA PANCREATICUM.....	83
Costa Lima, Dr. A. da. Ceratopogonineos ectoparasitos de phasmideos.....	84
Azevedo, Dr. Penna de. Sobre o conteúdo gorduroso do pulmão humano.....	86
Costa Lima, Dr. A. da. Sobre algumas anophelinas encontradas no Brasil.....	91
Martins, Drs. Thales e Macedo, Dorival. Acção dos saes biliares sobre o tracto genital das cobayas.....	114



O supplemento das Memorias destina-se á publicação immediata das pesquisas realizadas no Instituto Oswaldo Cruz.

Algumas observações sobre o bacillo da tuberculose colocado em condições experimentaes proximas às condições saprophyticas

Pelos Drs. A. FONTES e J. BARBOSA DA CUNHA.

Desde 1923 que um de nós se vem occupando com o estudo do desenvolvimento do bacillo da tuberculose, adaptando-o a meios de cultura artificiaes, com o objectivo de obter a cultura do virus sob a forma granular, e ainda verificar a possibilidade da conservação do virus tuberculoso com suas propriedades morbigenas, mesmo quando collocado em condições proximas ás do saprophytismo.

Culturas de tuberculose aviaria, papagaio e bovina, antigas no laboratorio, com 5 mezes de desenvolvimento em gelose glicerinada a 50/o, foram transplantadas em 5—VII—23, para meio de SABOURAUD maltosado e meio de SABOURAUD maltosado-glicerinado a 50/o. As culturas se desenvolveram abundantemente nos tubos com o meio glicerinado e foram pouco abundantes nos tubos isemptos de glicerina. As amostras semeadas se comportaram igualmente, não sendo possivel estabelecer differença apreciavel no desenvolvimento das respectivas colonias, quando comparadas nos mesmos meios de cultura. (Observação feita em 11—XI—1923).

N'esta ultima data se procedeu a uma nova passagem nos mesmos meios, tendo sido observado um mez depois culturas mais abundantes que da primeira passagem. Estas culturas foram conservadas até Abril de 1924, quando iniciamos a verificação por novas series utilizando-nos das amostras mais antigas da collecção do Instituto. Dentre estas sobreleva notar a amostra T. M. 1. (Typo humano) que nessa occasião contava cerca de 25 annos de passagens successivas em meios artificiaes, *sem passagem em animal* e que conservava toda a sua virulencia e caracteres morphologicos de culturaes classicos.

Não só essa amostra como ainda outra do typo humano (T. M. 4), e outras do typo bovino foram mantidas por passagens successivas em meios de SABOURAUD maltosado, glicerinado-maltosado-glicosado, glicerinado-glicosado, conservação, conservação-glicerinado e gelose glicerinada, até Outubro de 1924, sem que fossem notadas differenças accentuadas no desenvolvimento das culturas nem na virulencia das amostras.

Pelos exames repetidos essas amostras conservaram sempre sua morphologia em bastonetes mais ou menos granulosos, sua acido-resistencia mais ou menos accentuada e sua virulencia sem modificação apreciavel. O (mesmo) succedeu em culturas mantidas por passagens repetidas em meios liquidos de composição identica ao SABOURAUD (com exclusão de gelose) e no meio usado para o preparo da vaccina do carbunculo sympto-

matlico, immensamente favoravel á attenuação desse germen, e que é constituido pelo caldo de carne, sôro de cavallo e glycose.

Ainda ahi as amostras de tuberculose semeiadas se desenvolveram sem attenuação apreciavel de sua virulencia e sem modificação sensivel na sua morphologia e caracteres culturaes. (Observações feitas em 8 de Setembro de 1924).

II

Alguns dos tubos de cultura em SABOURAUD maltosado, glycerinado-maltosado e glycosado-maltosado foram deixados fóra da estufa em exposição á luz diffusa, arrolhados com rolha de cortiça, sem nenhuma repicagem. Assim de Agosto de 1924 a Novembro de 1926 permaneceram essas culturas, quando foram então repicadas para novos tubos de SABOURAUD. A semente não se desenvolveu nos tubos repicados, que foram conservados na estufa durante 45 dias.

Addicionou-se então um pouco de caldo simples aos tubos originaes e foram elles mantidos em estufa até Fevereiro de 1927. Nessa data a amostra T. M. 1., semeada em SABOURAUD-glycosado em 29—VIII—24, repicada novamente deu desenvolvimento a culturas pujantes de bacillos de tuberculose alcool-acido-resistentes.

Em 6 de Janeiro de 1928, procedeu-se a uma nova transplantação da semente do tubo original T. M. 1., semeado em Agosto de 1924, tendo havido abundante desenvolvimento em todos os tubos semeados.

A vitalidade da semente no meio de SABOURAUD-glycosado se mantinha ainda, após 3 annos e 5 mezes. As outras amostras não mais se desenvolveram.

As experiencias acima referidas demonstram a possibilidade do bacillo da tuberculose manter-se em estado de vida latente em culturas artificiaes durante o praso de 2 annos e 7 mezes recobrando a sua virulencia (na accepção da capacidade de reproducção) sem perder os seus caracteres morphologicos e culturaes, bastando para isso encontrar elementos favoraveis ao seu desenvolvimento: CALOR, ELEMENTO NUTRITIVO E HUMIDADE.

III

Essas experiencias conduziram o nosso espirito á verificação da possibilidade de vida do bacillo da tuberculose em condições proximas ao saprophytismo natural. Para esse fim estabelecemos a seguinte serie experimental, cujo protocollo damos a seguir.

Em 21 de Março de 1927—Foram semeados 2 balões de caldo glycerinado a 5 % em superficie com cultura em pelle de T. M. R. (amostra isolada de urina de homem, typo humano); 2 balões com cultura em pelle de T. H. A. (typo humano, proveniente da Argentina) e 2 balões de T. M. 1. (typo humano, isolado de escarro).

Os balões foram conservados á temperatura ambiente e expostos á acção da luz diffusa.

Na 1.ª semana todas as pelles semeadas foram ao fundo dos balões. Em 5—5—27—Em um dos balões semeados com T. M. R. (balão 1) a semente que fora ao fundo serviu de nucleo ao desenvolvimento de uma cultura de cogumelo (observação feita 45 dias depois da semeadura).

22—6—927—Nessa data um fragmento da semente do balão 1 que accarretava consigo uma particula de cultura do cogumelo emulsionada em um pouco d'agua physiologica foi inoculado em 2 cobayas.

Estas cobayas apresentaram cancro e ganglios correspondentes infartados no prazo commum.

22—8—927—Nessa data foi extrahido um ganglio inguinal de uma das cobayas. Esfregaços do ganglio mostraram numerosos bacillos acido-alcool-resistentes, e mycelio. Com pús do ganglio foram sementeos tubos de batata glicerizada, PETROFF, e gelose glicerizada em SABOURAUD.

11—10—927—As culturas se desenvolveram bem em batata e em PETROFF e em gelose glicerizada e no meio de conservação de SABOURAUD.

Nos esfregaços feitos com o material retirado dos tubos de PETROFF e conservação de SABOURAUD, foram vistos abundantes mycelios ao lado de bacillos acido-alcool-resistentes com bastonetes GRAM positivos.

Nesta data procedeu-se á repicagem desses tubos para meios proprios á tuberculose assim como também para meio de SABOURAUD. Neste ultimo meio desenvolveu-se uma cultura de actinomyces.

30—11—927—As sementes depositas nos baldes em 21—3—927, foram retiradas e inoculadas em 8 cobayas, obedecendo á seguinte serie:

Balão n. 1. Tuberculose renal + cogumelo actinomyces:—2 cobayas.

Balão n. 2. Tuberculose renal + cogumelo não caracterizado:—2 cobayas.

Baldes III. IV. V e VI—com T. M. I e T. H. A.—caldos estereis, limpidos:—2 cobayas para cada balão.

Durante o mez de Dezembro morreram as cobayas correspondentes aos baldes III e IV, sem lesões tuberculosas. As outras se conservaram vivas sem manifestações de doença até a data actual.

Dessas experiencias decorre que o bacillo da tuberculose foi capaz de viver em latencia no interior do caldo de cultura, á temperatura ambiente e exposta á luz diffusa, sem se desenvolver, e supportando a concorrência vital com o desenvolvimento de uma cultura de cogumelo durante o prazo minimo de 45 dias e maximo de 90 dias (até onde chegou a nossa observação), sem modificação da sua virulencia.

Por outro lado foi elle acompanhado em symbiose pelo actinomyces que também foi isolado da lesão do animal.

Restava verificar se poderia ser também attribuida qualquer accção pathogenica á esse actinomyces.

Com esse fim procedeu-se á inoculação de uma cobaya com fragmento da cultura em SABOURAUD conservação (1º repique do tubo de PETROFF, onde fora semeado o pús da cobaya primitivamente infectada). No animal infectado com o actinomyces houve desenvolvimento de tuberculose. Nos ganglios inguinaes foram encontrados numerosos bacillos de KOCH. Não foi encontrada nenhuma forma attribuiavel ao actinomyces.

Uma verificação da cultura do actinomyces (2º repique) feita posteriormente mostrou a existencia de raros bastonetes acido-alcool-resistentes. Tratava-se por consequencia de resto de semente do tubo de PETROFF, passado para o meio de SABOURAUD. Uma cultura de actinomyces semeada em SABOURAUD (3º repique) não infectou a cobaya quando experimentada.

sup Assim, pois, o *actinomyces* não apresentou poder pathogenico para a cobaya.

A repicagem do balão III feita em 7—XII—927 para SABOURAUD deu desenvolvimento a uma cultura identica á que fôra obtida após a passagem desse cogumelo pelo organismo da cobaya.

Verificou-se assim experimentalmente a concorrência vital de um germe não pathogenico com um germe pathogenico em symbiose nas condições normaes do meio exterior, symbiose que se manteve por passagem no organismo animal, conservando-se ambos os germens com os seus característicos physio-pathologicos, isto é, um o seu poder pathogeno intacto (bacillo da tuberculose), o outro a sua não pathogenidade (*actinomyces saprophyta*).

As sementes mantidas nos baldes de caldo até Novembro foram nessa data inoculadas em cobayas que se mostraram sem alteração de saúde, nenhuma dellas se infectando.

Os tubos sêmeados com o pús da cobaya infectada por essa amostra de tuberculose deram desenvolvimento a magnificas culturas luxuriantes, todas porem dotadas de forte poder chromogeno. Quer os tubos de PETROFF, quer os de batata glicerinada ou os de gelose glicerinada, mostraram culturas coradas em róseo-salmão mais ou menos accentuado, até a cor de vermelho tijolo, entremeiado com coloração creme.

É digno de nota e se deve accentuar que a propriedade chromogena mostrou-se neste caso independente da constituição chimica do meio. Do mesmo modo, não esteve ella ligada á idade da cultura do laboratorio, por isso que foi verificada nessa amostra immediatamente depois da passagem pelo organismo da cobaya, quando anteriormente essa amostra não tinha poder chromogeno accentuado e que tambem não se manifestou nas culturas subsequentes áquellas obtidas após isolamento do germe do pús tuberculoso.

Os preparados microscopicos dessas culturas são tambem muito interessantes.

Nelles se observou a predominancia de formas em streptothrix.

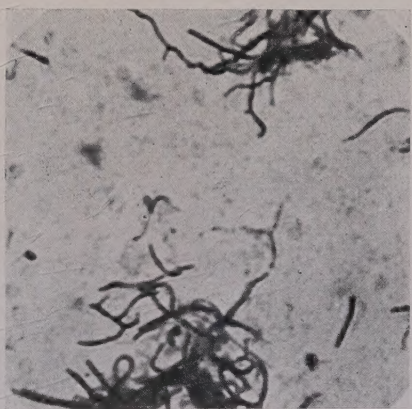
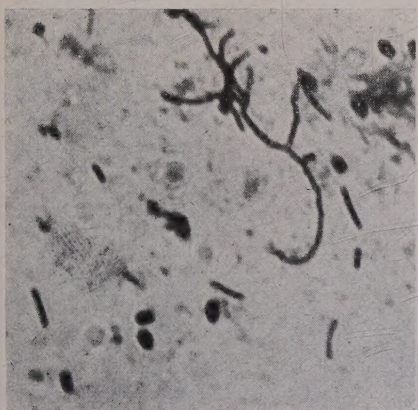
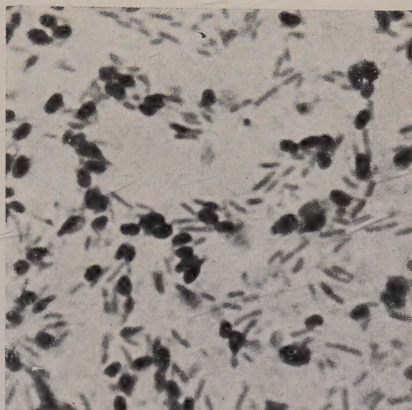
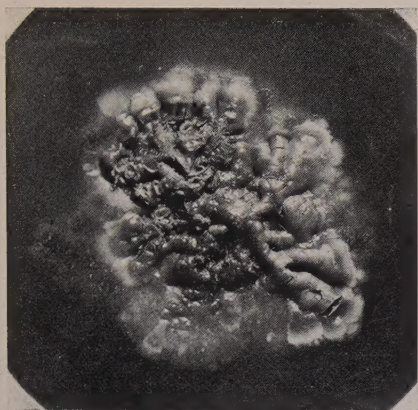
DISCUSSÃO.

As experiencias acima relatadas nos suggerem considerações de valor pratico.

A possibilidade do bacillo da tuberculose se manter em estado de vida latente durante o prazo de 2 annos e 7 mezes, recobrando sua vitalidade pela addição de elementos nutritivos que asseguravam ainda a conservação da vida da cultura original ao cabo de 3 annos e 5 mezes, falla muito alto em favor da grande resistencia do virus tuberculoso ás causas dysgenéticas do meio exterior.

Esta condição de resistencia e de vida latente ainda se tornou mais patente na serie experimental III.

Desta serie se conclue que a contaminação accidental por um *actinomyces* não se oppoz á vida symbiotica desse cogumelo com o bacillo de KOCH, conservando cada especie suas características biologicas, a saber: não pathogenidade do *actinomyces* e a pathogenidade e virulencia do bacillo da tuberculose. Essas experiencias nos mostraram, pois, que devemos manter grandes reservas sobre a destruição do virus tuberculoso pelas condi-



Phots. J. Pinto.

Fig. 1—*Actinomyces* não pathogeno para a cobaya. Cultura de 3 mezes em meio de conservação SABOURAUD.

Fig. 2—Microphotographia de um esfregaço desta cultura. Col. Methodo de GRAM.

Fig. 3—*Actinomyces* e bacillo da Tuberculose—Esfregaço de cultura mixta em PETROFF—Col. pelo Methodo de FONTES.

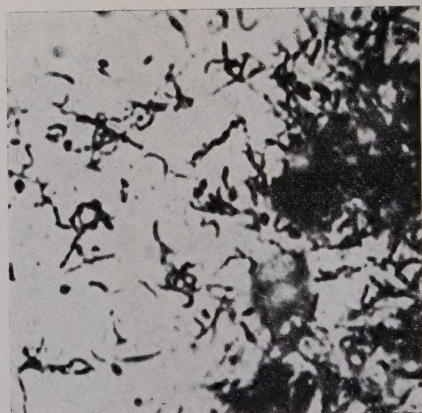
Fig. 4—Id. idem em batata glicerinada. Formas actinomycosicas acido-al cool-resistentes fortemente granulosas

Fig. 1—*Strahlenpilz* nicht pathogen fuer Meerschweinchen. Kultur in SABOURAUD's Konservierungsnaehrboden. Kultur von 3 Monaten.

Fig. 2—Mikrophotographie eines Ausstriches dieser Kultur. Faerbung: GRAM's-Methode.

Fig. 3—*Strahlenpilz* und Tuberkelbacillus. Ausstrich einer gemischten Kltur in PETROFF. Faerbung: Durch FONTES Methode.

Fig. 4—Id. id. in glycerinierter Kartoffel. Saeure-alkoholfeste *Strahlenpilz*formen stark granulose.



Photos. J. Pinto.

Fig. 5—Esfregaço de cultura em PETROFF do bacillo acido-alcool-resistente isolado de pus do ganglio de cobaya que succumbiu por tuberculose generalizada—Bac. acido-alcool-resistente fortemente granuloso. Pelo Methodo de FONTES.

Fig. 6—Id. id. Cultura em batata glicerinada.

Fig. 5—Ausstrich einer Kultur in PETROFF von saeure-alkoholfesten Bacillus, isoliert von Ganglien-Eiter eines an generalisierte Tuberkulose gestorbenen Meerschweinchens. Saeure-alkoholfester Bacillus stark granulose. Durch FONTES'-Methode.

Fig. 6—Id. id. Kultur auf glycerinierter Kartoffel.



Fig. 7



Fig. 8

Castro Silva, del.

Fig. 7—Cultura de tuberculose chromogena, isolada de pús de cobaya—Meio de PETROFF.

Fig. 8—A mesma cultura em batata glycerinada.

Fig. 7—Kultur von chromogener Tuberkulose, isoliert aus dem Eiter eines Meerschweinchens.—PETROFF'sches Medium.

Fig. 8—Dieselbe Kultur auf Glycerin-Kartoffel.

ções dysgenéticas do meio exterior, e nos fazem pensar na possibilidade de de infecções originárias de meios infectados.

CONCLUSÕES.

O vírus da tuberculose pôde se manter em latência de vida por prazo superior a 2 annos e 7 mezes, e viver em symbiose com um cogumelo não pathogeno por prazo de 90 dias, sujeito ás condições normaes do meio ambiente (acção da temperatura e da luz). Neste ultimo caso o vírus não perdeu a sua virulencia nem a sua pathogenicidade.

Einige Beobachtungen ueber den Tuberkelbazillus und seine experimentellen Beziehungen zu dem Saprophytismus nahestehenden Bedingungen

Von Dr. A. FONTES und Dr. J. BARBOSA DA CUNHA.

Seit 1923 beschaeftigt sich einer von uns mit der Untersuchung der Entwicklung des Tuberkelbazillus unter Zuechtung desselben auf kuenstlichen Naehrboeden, mit der Absicht, die Kultur des Virus in granulaerer Form zu erlangen und ferner die Moeglichkeit festzustellen, das tuberkuloese Virus mit seinen krankheitsverursachenden Eigenschaften zu konservieren, selbst wenn es unter dem Saprophytismus nahestehenden Bedingungen gesetzt wird.

I

Alte Laboratoriums Kulturen von Gefluegel—Papageien und Rindertuberkulose mit fuenfmonatlicher Entwicklung in fuenfprozentiger Glycerin-Gelose wurden am 5. 12. 23 auf sechsprozentigen SABOURAUD'schen Maltose und Maltose-Glycerin Naehrboeden ueberpflanzt. Die Kulturen entwickelten sich reichlich in den mit Glycerin beschickten Roehrchen, spaerlicher in den ohne Glycerin. Die ausgesaeten Proben zeigten das gleiche Verhalten, wobei es nicht moeglich war einen bemerkenswerten Unterschied in der Entwicklung der betreffenden Proben bei Vergleichung mit denselben Naehrboeden festzustellen. (Beobachtung von 11. 8. 23).

An diesem letztem Datum wurde eine neue Ueberimpfung auf die gleichen Naehrboeden vorgenommen, wobei ein Monat hernach weit reichlichere Kulturen als bei der ersten Ueberimpfung zur Beobachtung kamen. Diese Kulturen wurden bis April 1924 aufbewahrt, als wir die Untersuchung vermittlems neuer Reihen begannen, wozu wir die aeltesten in der Sammlung des Instituts vorraetigen Proben heranzogen. Unter diesen verdient besonders hervorgehoben zu werden die Probe T. M. 1. (typus humanus), die bei dieser Gelegenheit ungefaehr auf 25 Jahre verteilte aufeinanderfolgende Uebertragungen auf kuenstliche Naehrboeden, ohne Tierpassage zaehlte und die ihre gesammte Virulenz und ihre klassischen morphologischen und kulturellen Charaktereigenschaften bewahrte.

Nicht nur diese Probe, sondern noch eine weitere des Typus humanus (T. M. 4), ferner solche vom Typus bovinus wurden konserviert durch aufeinanderfolgende Ueberimpfungen auf SABOURAUD'sche Maltose, Glycerin-Maltose—Glykose und Glycerin—Glykose Naehrboeden, durch Aufbewahrung in Glycerin und Glycerin-Gelose bis Oktober 1924, ohne hervortretende Unterschiede in der Entwicklung der Kulturen oder in der Virulenz der Proben sich bemerkbar machten.

Durch wiederholte Pruefungen ergab sich, dass diese Proben ihre mehr oder weniger granulirte Staebchenform, ihre ziemlich ausgepraegte Saeure-Resistenz und ihre wenig veraenderte Virulenz stets bewahrten. Das

gleiche war der Fall bei durch wiederholte Ueberimpfungen auf fluessige Naehrboeden von dem SABOURAUD'schen Verfahren aehnlicher Zusammensetzung (mit Ausschluss von Gelose) erhaltenen Kulturen, ferner bei Kulturen, die auf zur Bereitung der Vakzine gegen den Carbonulus symptomaticus angewandtem Naehrboeden gewonnen wurden, dieser letztere Naehrboeden ist der Abschwachung dieses Keimes ausserordentlich guenstig und besteht aus Fleischbouillon, Pferdeserum und Glykose.

Auch hiebei entwickelten sich die ausgesaeten Proben der Tuberkulose ohne bemerkenswerte Abschwachung ihrer Virulenz und ohne offensichtliche Veraenderung ihrer Morphologie und ihrer kulturellen Charaktereigenschaften. (Beobachtungen vom 8 September 1924).

II

Einige der Roehrchen mit Kulturen in SABOURAUD'schen Maltose, Glycerin-Maltose und Glykose-Maltose-Naehrboeden wurden ausserhalb des Brutofens diffusem Licht ausgesetzt, wobei die Roehrchen ohne irgend welche Ueberimpfung nur mit einem einfachen Stopfkorken verschlossen worden sind. So verblieben diese Kulturen vom August 1924 bis November 1926, worauf dann Ueberimpfung auf neue SABOURAUD'sche Roehrchen vorgenommen wurden.

Die Saat entwickelte sich nicht in den ueberimpften Roehrchen, die im Brutofen 45 Tage lang aufbewahrt wurden.

Es wurden hernach den urspruenglichen Roehrchen etwas einfache Naehrbouillon zugesetzt und dieselben dann im Brutofen bis Februar 1927 belassen. An diesem Zeitpunkt zeitigte die Probe T. M. 1 durch Aussaat auf SABOURAUD'schen Glykose-Naehrboden und nach erneuter Ueberimpfung die Entwicklung gewaeltiger Kulturen von Alkohol-Saeure-resistenter Tuberkelbazillen.

Am 5. Januar 1928 wurde eine neue Ueberimpfung der Saat des im August 1924 besaeten Originalroehrchens T. M. 1. vorgenommen, wobei eine reichliche Entwicklung in allen beschickten Roehrchen zu Tage trat.

Die Lebensfaehigkeit der Saat auf SABOURAUD'schen Glykose-Naehrboden war also nach 3 Jahre und 5 Monaten noch erhalten.

Die uebrigen Proben zeigten keine weitere Entwicklung mehr.

Die oben erwachten Versuche beweisen die Moeglichkeit den *Tuberkelbazillus* in latenter Lebensfaehigkeit auf kuenstlichen Naehrboeden waehrend 2 Jahren und 7 Monaten zu erhalten unter Wiedererlangung seiner Virulenz (im Sinne der Reproduktionsfaehigkeit) ohne dass er seine morphologische und kulturellen Charaktereigenschaften einbuesst, wozu genuegt, seiner Entwicklung guenstige Elemente vorzufinden, naemlich Waerme, Naehrboeden und Feuchtigkeit.

III

Diese Untersuchungen liessen uns an die Moeglichkeit denken, festzustellen, ob der Tuberkelbazillus unter dem natuerlichen Saprophytismus nahestehenden Bedingungen lebensfaehig ist. Zu diesem Zwecke haben wir folgende Versuchsreihen angestellt worueber wir folgendes berichten:

21. März 1927. Es wurden 2 Kolben mit 50%iger Glycerin-Bouillon flächenhaft mit Haeutchenkultur von T. M. R. beschickt (isolierte Probe vom menschlichem Urin, typus humanus), 2 Kolben mit Haeutchenkultur von T. H. A. (typus humanus aus Argentinien stammend) und 2 Kolben mit T. M. 1.

Die Kolben wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und der Wirkung diffusen Lichtes ausgesetzt.

In der ersten Woche hatten sich alle ausgesaeten Haeutchen auf den Boden der Kolben gesenkt.

5. 5. 27. In einem der mit T. M. R. beschickten Kolben (Kolben N. 1) diente die auf dem Boden befindliche Saat als Kern fuer die Entwicklung einer Pilzkultur (45 Tage nach der Aussaat gemachte Beobachtung).

22. 6. 27. An diesem Tage wurde ein Bruchteil der Aussaat des Kolbens N. 1, der eine Spur der Pilzkultur mit sich fuehrte, in etwas physiologischer Loesung emulsioniert und 2 Meerschweinchen eingepflegt.

Diese Meerschweinchen zeigten Cancer und entsprechende Druesenschwellungen innerhalb der gewoehnlichen Frist.

22. 8. 27. An diesem Tage wurde einem der Meerschweinchen eine Leistendruese stirpiert. Mikroskopische Ausstrichpraeparat dieser Druese liessen zahlreiche Alkohol-Saeure-resistente Bazillen und Pilzmycelien erkennen. Mit Eiter aus der Druese wurden Roehrchen mit Kartoffel-Glycerin, mit PETROFF und Gelose-Glycerin Naehrboeden beschickt.

11. 1. 27. Die Kulturen entwickelten sich gut auf Kartoffel. PETROFF, Gelose-Glycerin und in dem SABOURAUD'schen Konservierungsmittel.

In den mit Material, das aus den Roehrchen mit PETROFF und SABOURAUD entnommen wurde, hergestellten Ausstrich-praeparaten wurden zahlreiche Myzelien neben Saeure-Alkohol resistenten Bazillen mit GRAM positiven Staebchen beobachtet.

An diesem Tage wurde die Ueberimpfung dieser Roehrchen auf fuer Tuberkulose geeignete Naehrboeden und gleichfalls auf SABOURAUD vorgenommen. Auf dem letztem Boden entwickelte sich eine Kultur von Aktinomyces.

30. 11. 27. Die am 21. 3. 27. in die Kolben gebrachten Saaten wurden entnommen und 2 Meerschweinchen damit geimpft, unter Einhaltung nachstehender Reihenfolge:

Kolben n. 1. Nierentuberkulose Aktinomyces—Pilz—2 Meerschweinchen.

Kolben n. 2. Nierentuberkulose nicht charakterisierter Pilz—2 Meerschweinchen.

Kolben n. 3. 4. 5. 6. T. M. 1. und T. H. A.—klare sterile Bouillon—2 Meerschweinchen fuer jeden Kolben.

Im Verlauf des Dezembers gingen die diesbezuglichen Meerschweinchen der Kolben 3 und 4 ohne tuberkulose Schaedigungen zu Grunde. Die uebrigen blieben am Leben, ohne bis heute irgendwelche Krankheitserscheinungen zu zeigen.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, dass der Tuberkelbazillus im Inneren der Naehrbouillon bei Zimmertemperatur und diffusem Licht ausgesetzt latent lebensfaehig bleibt, ohne sich zu entwickeln, wobei er die Lebensgemeinschaft mit der Entwicklung einer Pilzkultur fuer eine Mindestfrist von 45

Tagen und für eine Höchstfrist von 90 Tagen (bis dahin erstreckt sich unsere Beobachtung) erträgt, ohne Veränderung seiner Virulenz.

Anderseits wurde er in Symbiose mit Aktinomyces, der ebenfalls aus den geschädigten Tierorganen isoliert wurde, angetroffen. Es eruebrigt sich noch festzustellen, ob irgend welche pathogene Wirkung diesem Aktinomyces zukommen.

Zu diesem Behufe wurde an die Impfung eines Meerschweinchens mit einem Bruchteil der in dem SABOURAUD'schen Konservierungsmittel angelegten Kultur gegangen. (erste Ueberimpfung auf PETROFF Roehrchen, wo der Eiter des ursprünglich infizierten Meerschweinchens ausgesaet worden war.)

In dem durch Aktinomyces infizierten Tier hatte Entwicklung der Tuberkulose stattgefunden. In den Inguinaldruesen wurden zahlreiche KOCH'sche Bazillen angetroffen. Es wurde keine auf Aktinomyces sich beziehende Form vorgefunden.

Eine nachher vorgenommene Untersuchung der Aktinomyces-Kultur (zweite Ueberimpfung) zeigte die Anwesenheit spärlicher, Säure-Alkohol-resistenter Stäbchen. Es handelte sich folglich um Reste der Aussaat des PETROFF Roehrchens, die auf SABOURAUD'sches Konservierungsmittel uebertragen worden war. Eine auf SABOURAUD ausgesaete Aktinomyces-Kultur (dritte Ueberimpfung) hat das Meerschweinchen bei einem diesbezüglichen Versuche nicht infiziert.

Daraus folgt, dass der Aktinomyces keinen krankheitsregenden Einfluss auf Meerschweinchen ausübt.

Die Ueberimpfung aus Kolben n. 1 vom 7. 12. 27. auf SABOURAUD gab Anlass zur Entwicklung einer identischen Kultur, wie sie nach Passage dieses Pilzes durch den Organismus des Meerschweinchens erhalten worden war.

Es wurde auf diese Weise die vitale Gemeinschaft eines nicht pathogenen Keimes mit einem pathogenen Keime in Symbiose unter normalen Bedingungen der Aussenwelt festgestellt, eine Symbiose, die bei Passage im tierischen Organismus erhalten bleibt, wobei beide Keime ihre physiologisch-pathologischen Charaktereigenschaften, naemlich der erste, seine intakte pathogene Wirkung (Tuberkelbazillus), und der zweite seine Nichtpathogenitaet (saprophytischer Aktinomyces) bewahrten.

Die in den Kolben mit Bouillon bis November unterhaltenen Saaten wurden um diese Zeit auf Meerschweinchen geimpft, die ohne irgendwelche Schädigung und ohne Infektion diese Impfung ueberstanden.

IV

Die mit dem Eiter des durch die Probe von Tuberkulose infizierten Meerschweinchens beschickten Roehrchen fuehrten zur Entwicklung von grossartigen ausgedehnten Kulturen, die jedoch alle durch starke chromogene Eigenschaft sich auszeichneten. Sowohl die PETROFF-Roehrchen als die mit Kartoffel-Glyzerin oder Gelose-Glyzerin bereiteten Naehrboeden zeigten die Kulturen in einer lachsrosaroten Färbung, die mehr oder weniger bis Ziegelsteinfarbe mit dazwischengeschichteter cremeartiger Färbung sich verdichtete.

Es ist bemerkenswert und verdient hervorgehoben zu werden, dass die chromogene Eigenschaft sich in diesem Fall unabhängig von der chemischen Konstitution des Milieus erwies. Sie stand gleichfalls in keiner Beziehung zum Alter der Laboratoriumskulturen, weil sie in dieser Probe unmittelbar nach der Passage durch den Organismus des Meerschweinchens festgestellt wurde, während vorher diese Probe keine ausgeprägte chromogene Eigenschaft hatte, die auch in den Kulturen, die auf jene nach Isolierung des Keimes aus dem tuberkulösen Eiter folgten, nicht zutage trat.

Die mikroskopischen Präparate dieser Kulturen sind ebenfalls sehr interessant.

Man beobachtete hierbei das Vorkommen von Formen von Streptothrix.

DISKUSSION:

Die eben berichteten Untersuchungen drängen uns Betrachtungen praktischen Werts auf.

Die Möglichkeit, dass der Tuberkelbazillus im latenten Lebenszustande während einer Zeit von 2 Jahren und 7 Monaten sich hält, wobei er seine Vitalität durch Zusetzen von nährenden Elementen wieder erlangt, die weiter die Erhaltung des Lebens der ursprünglichen Kultur bis zum Ablauf von 3 Jahren und 5 Monaten sicherten, spricht laut und deutlich für die grosse Widerstandskraft des tuberkulösen Virus gegen dysgenetische Ursachen der Aussenwelt.

Dieses Verhalten der Widerstandskraft und des latenten Lebens wurde noch offensichtlicher in der Versuchsreihe 3.

Aus dieser Reihe folgt, dass die zufällige Ansteckung mit Aktinomyces dem symbiotischen Leben dieses Pilzes mit dem KOCH'schen Bazillus keinen Abbruch tut, wobei jede Art ihre biologischen Charaktereigenschaften beibehält, nämlich:

Die Nichtpathogenität des Aktinomyces und die Pathogenität und Virulenz des Tuberkelbazillus.

Diese Untersuchungen zeigen uns also, dass wir uns streng reserviert verhalten müssen gegenüber der Zerstörung des tuberkulösen Virus durch dysgenetische Verhältnisse der Aussenwelt und ausserdem lassen uns diese Untersuchungen an die Möglichkeit von aus infiziertem Milieu stammenden Infektionen denken.

SCHLUSSFOLGERUNG.

Das Tuberkulose-Virus vermag in latentem Lebenszustande für eine Zeit von über 2 Jahren und 7 Monaten sich zu erhalten und in Symbiose mit einem nicht pathogenen Pilz bis zu 90 Tage zu leben, wenn er normalen Verhältnissen der Umgebung ausgesetzt wird. (Temperatur und Lichteinfluss). In diesem letzteren Falle hat das Virus weder seine Virulenz noch seine Pathogenität eingebuesst.

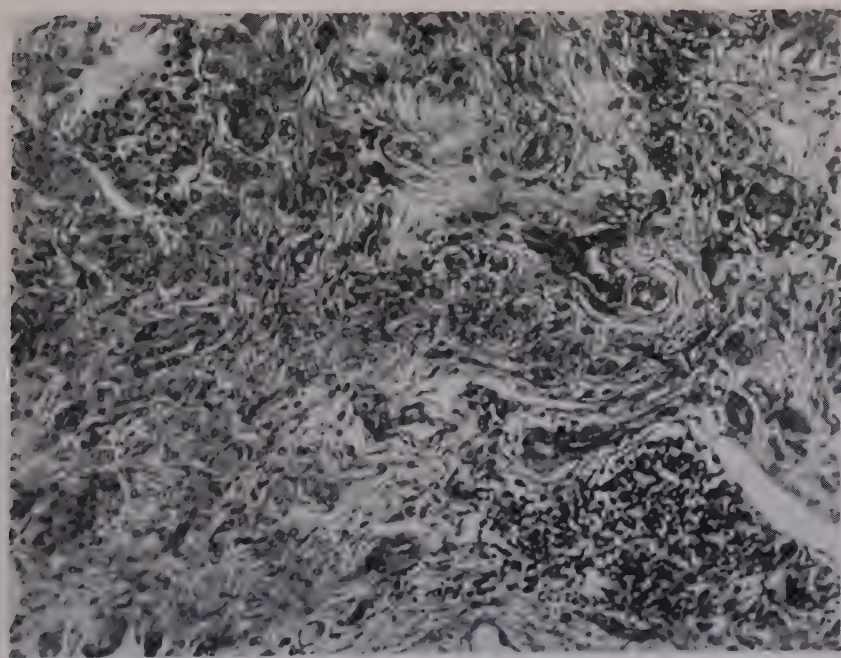
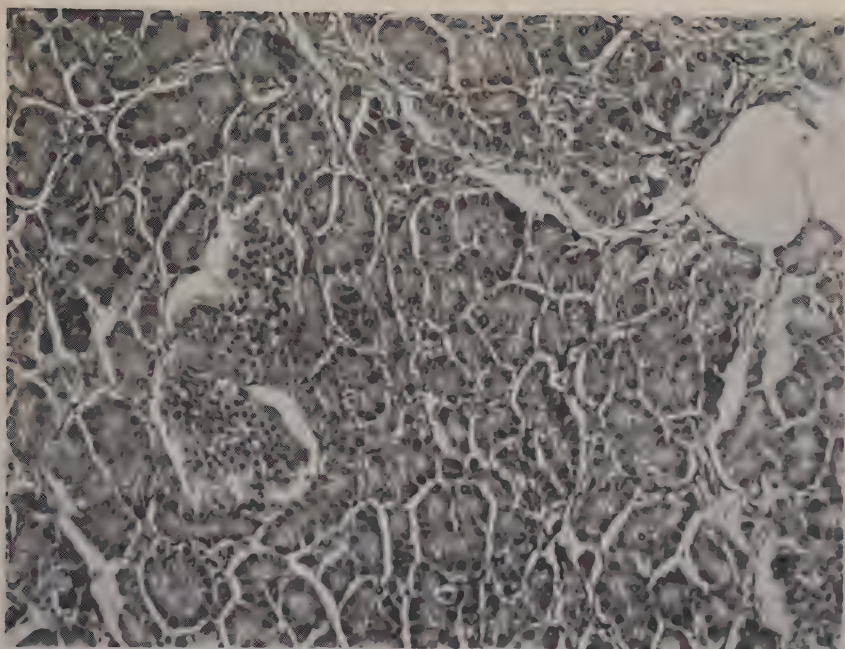


Fig. 1—Pancreas : zonas normaes.

Fig. 2—Pancreatite intersticial chronica. Infiltrações lymphocytarias.

Photos. J. Pinto

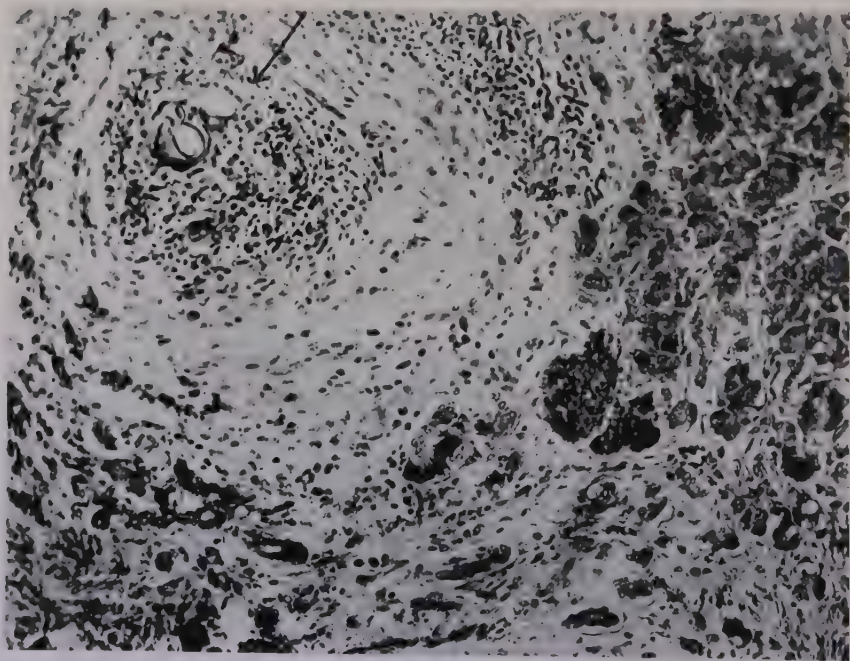
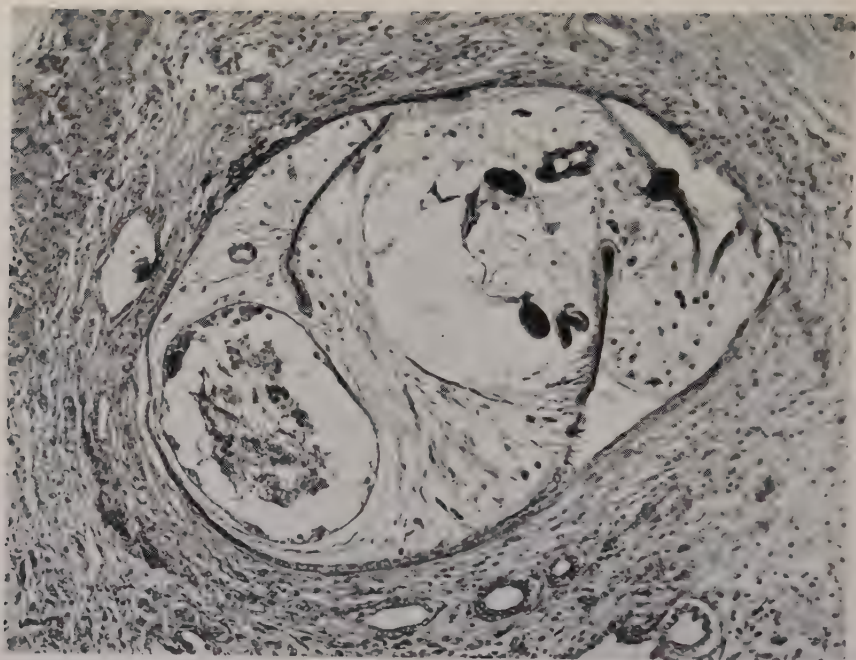


Fig. 3—Pancreas. O *Eurytrema pancreaticum* dentro de um canaliculo excretor

Fig. 4—Ovos do parasito. Reacção fibrosa e cellulas gigantes, tipo de corpo extranho.

Photos. J. Pinto

Sobre as lesões do pancreas de boi produzidas pelo **EURYTREMA PANCREATICUM.**

Pelo Dr. C. BURLE DE FIGUEIREDO.

A secção de anatomia pathologica recebeu do Dr. LAURO TRAVASSOS fragmentos de pancreas de boi, fixados em formol a 10 %, para descripção das lesões nelles encontradas, produzidas pelo *Eurytrema pancreaticum*.

Feita a inclusão em paraffina, foram os blócos cortados em série, e os cortes, de 3 a 4 *micra* de espessura, corados pela hematoxylina-eosina. Ao exame pudémos encontrar, com facilidade, o parasito em diferentes pontos, como também ovos, disseminadamente. As lesões encontradas são as de uma pancreatite intersticial chronica, processo inflammatorio chronico, circumscripto, com producção, em alguns focos, de cellulas gigantes do typo de corpo extranho.

Como bem mostra a microphotographia n. 1, encontram-se zonas nas quaes o aspecto normal do pancreas é conservado, vendo-se nitidamente os *acini* glandulares e as ilhotas de LANGERHANS, perfeitamente conservadas.

A microphotographia n. 2 mostra o aspecto da maior parte do material, que é constituido por proliferação de tecido conjunctivo, acarretando a destruição dos *acini* glandulares com conservação das ilhotas de LANGERHANS, e infiltrações lymphocytarias. Este aspecto é observado ao redor dos pontos onde são encontrados os parasitos, como também, em reacção em torno dos ovos, que se acham no parenchyma pancreatico.

Destes dois aspectos, n. I e II, podemos deduzir que a extensão das lesões depende do gráo de infestação, que no nosso caso é bastante avançada, e que a função de secreção interna é conservada e só alterada remotamente, pela extensão do processo. A localização do parasito no pancreas é evidenciada com a gravura n. 3. Elle se encontra dentro de canaliculos excretores, como se vê bem pelo epithelio que o reveste, em espaço deixado pelo parasito, em uma de suas curvas naturais. Nesta mesma microphotographia observa-se dilatação dos canaliculos excretores, devido á obstrucção, por parasitos, de canaes maiores. A photographia n. 4 mostra os ovos com reacção em torno e producção de cellulas gigantes do typo de corpo extranho.

E quando o abdômen é abandonado, como se observa com os catapaltes, achase quasi completamente transformado em um sacco de ovos.

Como disse, foi FIEBIGER-GERTZ quem, pela primeira vez, descreveu com certo detalhe este caso interessante de parasitismo. Todavia em 1917, quando o Dr. F. J. C. de Almeida, da Universidade de São Paulo, encontrou um pequeno díptero encontrado nas *Antilias* "closely applied to and sucking the juices from the antenna of a phasid". Elle o considerou

Ceratopogonineos ectoparasitos de phasmídeos.

Pelo Dr. A. da COSTA LIMA.

(Com 5 figuras)

Ha algum tempo o meu presado collega frei THOMAZ BORGMEIER entregou-me um exemplar de um díptero de aspecto curioso, apanhado por J. F. ZIKAN em São Gabriel (alto do Rio Negro), a 11 de Outubro de 1927, sobre um phasmídeo não determinado.

Ao receber o material verifiquei tratar-se de uma ceratopogonínea do genero *Forcipomyia* (fam. Chironomidae).

Uteriormente, feitas as necessarias pesquisas bibliographicas, verifiquei que a especie ainda não havia sido descripta. Achando-me nessa occasião occupado com outros trabalhos, deixei para mais tarde a confecção de uma nota sobre o insecto, principalmente para assignalar o parasitismo do mesmo sobre phasmídeos (bichos-páo), facto até então desconhecido.

Mal começára a descrever esta nota, quando, lendo o ultimo numero dos *Annales de Parasitologie*, T. VI, n. 3, 1er. Juillet 1928, deparei com um artigo de FIEBRIG-GERTZ intitulado: Un díptère ectoparasite sur un phasmide: *Ceratopogon ixodoides* n. sp.

Lendo-o rapidamente, tive a principio a impressão de que o autor encontrára o mesmo insecto que me fora dado por BORGMEIER, não sómente pela identidade de habitos, como pelo aspecto geral do corpo. Entretanto, a julgar pela descripção e pelo desenho das antenas que FIEBRIG-GERTZ apresenta para o seu *Ceratopogon* (que aliás deve ser uma *Forcipomyia*), creio ser differente a especie por mim estudada.

A parte do trabalho de FIEBRIG-GERTZ sobre os habitos do *Ceratopogon ixodoides* é original e bem interessante. De facto esse autor, pela primeira vez, estudou com algum detalhe um ceratopogoníneo cujas femeas vivem agarradas, como carrapatos, ao dorso de um phasmídeo e sempre em lugares de facil accesso (articulações dos segmentos, visinhança dos estigmas, etc.). Em cada phasmídeo elle encontrou 10 e mesmo um maior numero de exemplares. Chamou tambem attenção para o extraordinario desenvolvimento do abdomen do insecto, que attinge as mesmas proporções de uma femea de *Tunga* (bicho de pé) por occasião da maturidade. A analogia com a *Tunga*, como diz o autor, é completa, pois o referido parasito permanece fixado ao hospedeiro até o momento da maturidade dos ovos. E quando o abandona, como se observa com os carrapatos, acha-se quasi completamente transformado em um sacco de ovos.

Como disse, foi FIEBRIG-GERTZ quem, pela primeira vez, descreveu com certo detalhe este caso interessante de parasitismo. Todavia em 1908 WILLISTON, em seu *Manual of North American Diptera* (p. 147), menciona um pequeno díptero encontrado nas Antilhas "closely applied to and sucking the juices from the antennæ of a phasmid". Elle o considerou



Fig. 1—*Forcipomyia obesa* ♀ $\times 27$.

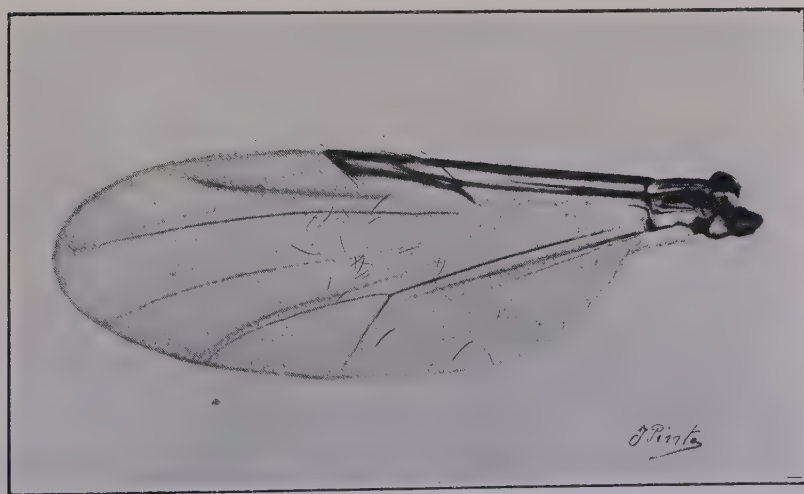


Fig. 2—Aza de *F. obesa*; $\times 56,5$.



Fig. 3—Antenna de *F. obesa* ; $\times 94$.

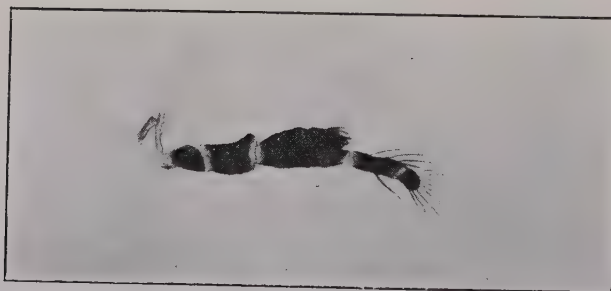


Fig. 4—Palpo de *F. obesa* ; $\times 94$.

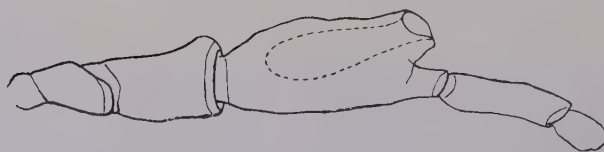


Fig. 5—Palpo de *F. obesa*.

como representante de um novo genero da fam. Simuliidae, porem, as figuras que apresentou, como bem pondera EDWARDS (*), indicam antes tratar-se de um ceratopogonineo. Aliás, como adianta EDWARDS, nada mais se soube relativamente a esse especimen, provavelmente perdido, pois não se o encontra nem nas collecções de material das Antilhas do British Museum, estudadas por WILLISTON, nem nas deste autor, que se acham em Washington e em New York.

Feitas estas considerações, passo a analysar os caracteres que, no especimen colhido por ZIKAN, não estão de accôrdo com os de *Ceratopogon ixodoides*.

Nesta especie as antenas, como descreve e figura o autor, são pouco mais compridas que o diametro da cabeça e apresentam, do torus ao segmento apical, 13 segmentos, contando-se apenas 4 alongados. Diz ainda FIEBRIG-GERTZ que toda a superficie da antenna, exceptuando o torus, é coberta de pellos finos, um pouco mais alongados nos segmentos basilares. Alem disso, o comprimento desses pellos não excede muito ao diametro dos segmentos. Ora, se as antenas examinadas por FIEBRIG-GERTZ estavam perfeitas, só pelo aspecto destes órgãos a especie que estudei deve ser differente, como se pode verificar examinando a microphotographia n. 3.

As azas de *C. ixodoides*, embora mal representadas, parecem tambem ser differentes das do nosso especimen.

Os palpos, igualmente parecem apresentar aspecto diverso. Sobre esse órgão diz FIEBRIG-GERTZ o seguinte: "Les palpes sont triarticulés. L'article basal est aussi long que les trois autres et deux fois plus volumineux. Ils sont densément couverts de poils fins et assez longs, plus longs que ceux des antennes". Eu não sei bem a que articulo basal se refere o autor, se ao 3º ou si ao conjuncto dos 2 primeiros basaes, pois, neste grupo, os palpos sempre apresentam 5 segmentos. No exemplar que estudei, o 3º tem a abertura da escavação sensorial numa saliência em tronco de cone perto do apicé do segmento. Tal órgão tem sido assinalado por varios autores em varias especies de Ceratopogoninae e aqui mesmo LUTZ (**), que publicou varios e notaveis artigos sobre os nossos ceratopogonineos, teve o ensejo de o estudar em algumas especies.

São estas as diferenças que se observam no nosso especimen, comparando-o com a descripção e figuras de *C. ixodoides*.

No mais, ha semelhança perfeita entre os 2 insectos. Si, pois, o aspecto de *C. ixodoides* é exactamente como foi descripto por FIEBRIG-GERTZ, é evidente que a nossa *Forcipomyia* representa o typo de uma outra especie, para a qual proponho, no caso de FIEBRIG-GERTZ, confirmar as diferenças por mim observadas, o nome de *Forcipomyia obesa*.

O holotypo é representado pelo especimen unico que possuímos, montado na lamina n. 500. A antenna, a aza e o palpo do mesmo insecto acham-se montados nas preparações nrs. 501 e 502, da collecção entomologica do Instituto Oswaldo Cruz.

Manguinhos, Agosto de 1928.

(*) EDWARDS, F. M. New and old observations on ceratopogonine midges attacking other insects. Ann. Trop. Med. and Parasit., 1923, XVII, p. 28.

(**) LUTZ, A.—Contribuição para o estudo das Ceratopogoninas hematófagas do Brasil. Parte sistematica, Segunda Memoria. Mem. Inst. Osw. Cruz, 1913, Vol. I, pp. 45-72.

Sobre o conteúdo gorduroso do pulmão humano (*)

Por A. PENNA DE AZEVEDO

A questão do conteúdo gorduroso do pulmão tem despertado interesse entre os pesquisadores, achando-se ligada, entre outras, á questão da lipodiérese pulmonar, posta em foco, recentemente, por ROGER:

Já em 1905, GILBERT e JOMIER evidenciavam em côrtes de pulmão de cães normaes, submettidos a diversos regimes, fixados na mistura forte chromo-osmio-acetica de FLEMMING, grandes massas de côr negra e aspecto irregular, localizadas no interior dos capillares sanguineos.

Esses mesmos aspectos eram vistos quando se injectava, na veia saphena do animal, uma emulsão gordurosa. Correspondiam a granulos gordurosos que haviam reduzido o acido osmico.

O pulmão normal, segundo esses autores, apresentaria então, grandes massas gordurosas intracapillares, semelhantes ás descriptas na embolia gordurosa pulmonar. A gordura entretanto, não se localizaria apenas no interior dos capillares pulmonares, sob a fórma de blocos coalescentes, mas infiltraria tambem, elementos especiaes, repartidos indistinctamente em todo o órgão, existindo no tecido celluloso-adiposo e nas cellulas dos nodulos cartilagosos que envolvem os bronchios.

No epithelio bronchico, as granulações existiriam em abundancia.

GRANEL, examinando o epithelio dos alveolos e as ultimas ramificações bronchicas, no rato, chegou á conclusão de que as cellulas do epithelio contem reservas gordurosas em abundancia, que se evidenciam pela fixação no CIACCIO, sendo coraveis pelo sudan III. Principalmente nas pequenas cellulas nucleadas, o protoplasma é rico em granulações sudanophilas. Esse mesmo aspecto apparece ao nivel das cellulas epitheliaes das ultimas ramificações bronchicas, apenas em quantidade muito menor. Para GRANEL, existe uma transformação dos chondriocitos em "plastés" gordurosos.

FAURÉ-FREMIET affirma que a cellula nucleada pulmonar no adulto (cão, coelho, cobaya), contem granulos refringentes, coraveis pelo sudan ou pelo indophenol, granulos esses que apresentam os caracteres de solubilidade dos corpos gordurosos, não permitindo nenhum fixador a sua conservação em material incluído em paraffina, sendo elle assim, de opinião que esses granulos da cellula granulosa sejam constituídos por cholesterina.

Dizem ROGER, BINET e VERNE que, normalmente, algumas cellulas do pulmão encerram accumulações lipoidicas.

WENSLAW, que recentemente publicou trabalhos sobre tal assumpto, examinou o conteúdo gorduroso do pulmão em varias classes de animaes (batrachios, repteis, aves e mamíferos) e tambem o material colhido de

(*) Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz, laboratorio do Dr. C. MAGARINOS TORRES.

um recém-nascido (morto em asphyxia branca), chegando a conclusões deveras interessantes.

Assim o exame de um corte fresco de pulmão, em congelação, sem fixação, permittio-lhe o encontro de cellulas cubicas do epithelio pulmonar, encerrando numerosos grãos brilhantes, de dimensões diversas. Esses grãos podem ser corados pelo sulfato de azul de Nilo. O methodo de CIACCIO conserva-os, apparecendo elles corados em amarello-ouro. O methodo de SMITH-DIETRICH dá-lhes uma coloração cinzenta escura ou negra. Acha WENSLAW que a coloração pelo sudan não é boa, sendo elles de facil dissolução. Prefere fixar os fragmentos em formol salgado, corando depois em massa pela hematoxylina de BÖHMER. O methodo de SCHULTZ-WINDAUS para a cholesterina e o de FISCHER, não deram resultado ao autor.

Estabelece WENSLAW que as cellulas nucleadas do epithelio pulmonar contêm, de modo normal, grãos lipoidicos especiaes, muito labelis, apresentando os mesmos caracteres nos batrachios, repteis, aves e mamíferos. Em virtude de algumas de suas propriedades conclue WENSLAW que são verdadeiros lipoides (phosphatides) e devem estar relacionados com o exercicio de uma importante função.

JAULMES referindo-se á estrutura da pequena cellula granulosa do pulmão, affirma que no protoplasma dessas cellulas existem granulações pouco refringentes, de natureza mitochondrial e outras muito refringentes, de dimensões variaveis, que são globulos gordurosos, coraveis pelo sudan.

Interessados pela questão, resolvemos realizar, a nosso turno, investigações pessoaes, aproveitando material humano do qual, dispunhamos, em abundancia, no Serviço de Anatomia Pathologica do Hospital Geral de Assistencia, do Rio de Janeiro.

O material de que nos servimos, consta de 14 casos de autopsia, divididos em tres grupos differentes. Um delles comprehende aquelles em que o pulmão era de aspecto normal; um outro, em que predominavam alterações inflammatorias (bronchopneumonia, pneumonia); e finalmente um ultimo grupo em que existiam, de modo quasi exclusivo, alterações circulatorias (edema e hyperemia chronica passiva). Os primeiros resultados que aqui passamos a relatar, foram conseguidos, apenas, com o methodo de fixação em formol salgado e coloração pelo sudan III, em solução saturada no alcool a 70°.

No grupo constituido por pulmões aparentemente normaes, o conteúdo gorduroso é muito discreto, existindo escassos granulos nas cellulas da parede alveolar, sendo mesmo raros os elementos que encerram essas granulações sudanophilas. No tecido conjunctivo peribronchico existem tambem, elementos cellulares, contendo granulações alaranjadas. Do mesmo modo que na parede alveolar, aqui, as cellulas de conteúdo gorduroso são muito escassas. No interior dos capillares, bem como no endothelio de suas paredes, não existem granulações coradas pelo sudan. De modo algum encontramos massas gordurosas ou embolias gordurosas capillares semelhantes ás que GILBERT e JOMIER descreveram no cão.

No grupo de casos em que predominavam as alterações inflammatorias, o conteúdo gorduroso é bastante augmentado, parecendo achar-se, ás vezes, em relação directa com a intensidade do processo inflammatorio.

Assim é que as células da parede alveolar e os elementos do tecido conjuntivo peribronchico mostram granulações gordurosas, mais ou menos abundantes e de volume variável. Elementos do exsudado (macrófagos e polimorfonucleares) e células epiteliaes descamadas contem, igualmente, granulações gordurosas, em geral volumosas.

Nos casos em que o pulmão era sede de alterações circulatorias, o conteúdo gorduroso do parenchyma pulmonar soffreu pouca modificação, muito se aproximando do aspecto evidenciado nos casos normaes. Ao passo que as células epiteliaes, descamadas na luz dos alveolos, mostram numerosas gottas de gordura, os elementos da própria parede alveolar e do tecido conjuntivo peribronchico mostram granulações gordurosas pouco abundantes.

CASO 2639—M. L., Mulher de 53 annos de idade, branca, fallecida ás 2,15 horas do dia 3-7-928 e autopsiada ás 9 horas do mesmo dia.

O pulmão direito pesa 260 grs. e o esquerdo 210. Ambos têm aspecto normal, e superficie do corte sendo de cor rosea e secca. O estudo microscopico revela, na luz dos alveolos, algumas células grandes, contendo granulações pequenas, alaranjadas (células epiteliaes descamadas, monocytos), outras células contendo granulações pardacentas (células cardiacas). Na parede alveolar e tecido conjuntivo peribronchico, existem raras células de conteúdo gorduroso. Existe anthracose.

CASO 4091—J. C. S. de 7 mezes de idade, sexo feminino, parda, brasileira, fallecida ás 8,50 horas do dia 8-5-928 e autopsiada ás 10 horas do mesmo dia.

Pulmão direito pesa 30 grs. e o esquerdo 25 grs. Mostram um processo discreto de bronchopneumonia. No tecido conjuntivo peribronchico, não são raras células de conteúdo gorduroso, ás vezes proximas umas ás outras e geralmente volumosas. Na parede alveolar são igualmente encontradas células de núcleo redondo e de conteúdo lipoidico (células granulosas da parede alveolar). As granulações lipoidicas são de volume desigual, notando-se algumas grandes e outras pequenas. Não apparecem abundantes células com particulas de carvão (anthracose).

CASO 4092—N. P., de 3 annos de idade, sexo masculino, pardo, brasileiro, fallecido á 1,30 hora do dia 10-5-928 e autopsiada ás 9 horas do mesmo dia.

Pulmão direito pesa 85 grs. e o esquerdo 140 grs. Existem lesões de bronchopneumonia no esquerdo. Os elementos do exsudado inflammatorio mostram rico conteúdo gorduroso, especialmente, os macrófagos, o mesmo acontecendo com elementos do tecido conjuntivo peribronchico. As células da parede alveolar contêm granulações alaranjadas, mais ou menos abundantes. Não são abundantes os elementos contendo particulas de carvão.

CASO 4097—M. S., de 1 anno de idade, sexo feminino, preta, brasileira, fallecida ás 23 horas do dia 30-5-928 e autopsiada ás 9 horas do dia seguinte.

Pulmão direito pesa 75 grs. e o esquerdo 65 grs. Ambos apresentam lesões de bronchopneumonia. No interior dos elementos do exsudado (macrófagos) e nos elementos do tecido conjuntivo peribronchico, existem numerosos granulos alaranjados.

Nas células da parede alveolar, encontram-se granulações gordurosas. Não são abundantes células contendo particulas de carvão.

CASO 5242—M. L. P., mulher de 41 annos de idade, parda, brasileira, fallecida ás 3,50 horas do dia 11-5-928 e autopsiada ás 10 horas do mesmo dia.

Ambos os pulmões pesam, cada um, 400 grs. As lesões constam de edema e hyperemia chronica passiva. Na luz dos alveolos, existem células descamadas (epithelio monocytos), algumas contendo granulações alaranjadas, ás vezes muito pequenas e nitidas, outras vezes maiores e grosseiras; outras células contem pigmento pardacento (células cardiacas). Células contendo granulações negras, são vistas em determinadas regiões (anthracose). Na parede alveolar e no tecido conjuntivo peribronchico, são raros os elementos que contêm granulações sudanophilas.

CASO 5243—A. F. S., mulher de 31 annos de idade, parda, brasileira, fallecida ás 13 horas do dia 10-5-928 e autopsiada ás 9 horas do 11-5-928.

Ambos os pulmões são levemente augmentados de volume e mostram alterações circulatorias (edema e hyperemia chronica passiva). Pelo estudo microscopico, são vistas células na luz dos alveolos, contendo granulos gordurosos (células epiteliaes descamadas, monocytos),

e células encerrando pigmento pardacento (células cardíacas). Na parede alveolar, existem células pouco numerosas, contendo gordura, o mesmo acontecendo no tecido conjuntivo peribronchico. Existe anthracose.

CASO 5244—O. T., de 4 annos de idade; sexo feminino, parda, brasileira, fallecida ás 13 horas do dia 10-5-928 e autopsiada ás 9 horas do dia seguinte.

Pulmão direito pesa 90 grs. e o esquerdo 70 grs. Ambos têm aspecto normal. São rarrissimas as células da parede alveolar que contém granulações gordurosas. Uma ou outra célula das raras que existem na luz dos alveolos, mostra granulações sudanophilas. No tecido conjuntivo peribronchico, não se vê gordura. Existe anthracose.

CASO 5246—M. M. P., mulher de 20 annos de idade, branca, brasileira, fallecida ás 7,45 horas do dia 14-5-928 e autopsiada ás 9,30 do mesmo dia.

Pulmão direito pesa 340 grs. e o esquerdo 270 grs. Lesões de bronchopneumonia e hemorragias.

O exsudado (macrophagos) contém granulações gordurosas. Outras células (células cardíacas) contém granulos pardacentos e outras apresentam particulas de carvão (anthracose). Algumas células da parede alveolar contém granulações sudanophilas. Os elementos do tecido conjuntivo peribronchico são pobres em gordura.

CASO 5247—Criança do sexo masculino que veio á luz em asphyxia branca, ás 7 horas do dia 15-6-928, tendo sido autopsiada ás 9 horas do dia immediato.

Pulmão direito pesa 20 grs., e o esquerdo 15 grs. Os fragmentos retirados dos lobos pulmonares, menos os do lobo inferior direito, sobrenadam. Os cortes histologicos revelam, em certas regiões, areas de atelectasia. Em outras porções, vêm-se rarrissimas células da parede alveolar contendo pequenos e escassos granulos alaranjados. No tecido conjuntivo peribronchico, são igualmente, raras as células de conteúdo gorduroso.

CASO 5252—J. M. B., mulher de 21 annos de idade, branca, brasileira, fallecida no dia 23-5-928 e autopsiada ás 9 horas do mesmo dia.

Pulmão direito pesa 260 grs., e o esquerdo 290 grs. Apresentam alterações de bronchopneumonia.

São vistas células (células epitheliaes descamadas, monocytos) na luz dos alveolos, contendo granulos gordurosos em abundancia, fóra das zonas inflammatorias. Os elementos do exsudado inflammatorio que contém gordura não são abundantes e os que a encerram é sob a forma de pequenos e distinctos granulos. Na parede alveolar, são poucas as células de conteúdo gorduroso e no tecido conjuntivo peribronchico não ha células com gordura. Existe anthracose.

CASO 5253—J. S., homem de 24 annos de idade, preto, brasileiro, fallecido ás 15 horas do dia 24-5-928 e autopsiado ás 9 horas do dia immediato.

Pulmão direito pesa 505 grs., e o esquerdo 400 grs. Ambos mostram edema e hyperemia chronica passiva. Existem células descamadas na luz dos alveolos, sendo raras as que contém granulações gordurosas (células epitheliaes descamadas, monocytos). Na parede alveolar, com raridade, encontram-se células de granulações sudanophilas. No tecido conjuntivo peribronchico, não ha células com gordura. Existem células cardíacas e anthracose.

CASO 5254—J. A. C., homem de 23 annos de idade, pardo, brasileiro, fallecido ás 16 horas do dia 24-5-928 e autopsiado ás 9 horas do dia seguinte.

Pulmão direito pesa 405 grs., e o esquerdo 850 grs., apresentando pneumonia lobar. As células do exsudado inflammatorio, especialmente os macrophagos, mostram um rico conteúdo gorduroso. As células da parede alveolar assim como os elementos do tecido conjuntivo peribronchico, apresentam granulações, mais ou menos abundantes, coradas em alaranjado. Existem células cardíacas e anthracose.

CASO 5255—L. X., mulher de 50 annos de idade, branca, polaca, fallecida ás 4,55 horas do dia 25—5—928 e autopsiada ás 9 horas do mesmo dia.

Pulmão direito pesa 360 grs., e o esquerdo 560 grs. Existem areas lobulares de consolidação pulmonar. Os elementos do exsudado (macrophagos) mostram rico conteúdo gorduroso. Nas células da parede alveolar são encontradas granulações alaranjadas, abundantes, assim como nos elementos do tecido conjuntivo peribronchico. Existe anthracose.

CASO 5268—G. M. L., mulher de 42 annos de idade, parda, brasileira, fallecida ás 4 horas do dia 18—6—928 e autopsiada ás 9 horas do mesmo dia.

Pulmão direito pesa 470 grs., e o esquerdo 300 grs. Mostram edema e hyperemia chronica passiva. Na luz dos alveolos existem células volumosas contendo granulações gordurosas (células epitheliaes descamadas, monocytos), ao lado de outras contendo particulas de cor negra (anthracose) ou granulos pardacentos (células cardíacas). Na parede alveolar existem elementos encerrando granulações sudanophilas, sendo raro encontrar-se no tecido conjuntivo peribronchico células com granulos gordurosos.

Resumimos, nas seguintes conclusões, os resultados até agora conseguidos:

I—A cellula granulosa da parede alveolar do pulmão do homem contém, normalmente, granulações sudanophilas, pequenas e discretas.

II—O conteúdo gorduroso do pulmão é notavelmente augmentado em estados pathologicos, principalmente quando as lesões são de natureza inflammatoria.

Em taes estados as granulações gordurosas são não só mais abundantes, como apresentam maiores dimensões.

III—Em nenhuma das nossas observações conseguimos evidenciar globulos ou massas gordurosas coalescentes intracapillares, taes como foram verificadas no cão, por GILBERT e JOMIER.

LITTERATURA

FAURÉ-FREMIET—C. R. Soc. Biol., 1939, vol. 83, p. 1.

GILBERT (A) et JOMIER (J)—C. R. Soc. Biol., 1905, vol. 2, p. 39.

GILBERT (A) et JOMIER (J)—C. R. Soc. Biol., 1905, vol. 2, p. 87.

GILBERT (A) et JOMIER (J)—C. R. Soc. Biol., 1905, vol. 2, p. 89.

GRANEL (F)—C. R. Soc. Biol., 1919, vol. 82, p. 1329.

GRANEL (F)—C. R. Soc. Biol., 1919, vol. 82, p. 1367.

JAULMES (C)—Bull. d'Hist. appl. á la Phys. 1925, t. II, p. 192.

ROGER (H) BINET (L) et VERNE (J) - Journ. Phys. et Path. Gén. 1923, vol. 21, p. 461.

WENSLAW (A)—C. R. Soc. Biol., 1926, vol. 95, p. 700.

WENSLAW (A)—C. R. Soc. Biol., 1926, vol. 95, p. 702.

WENSLAW (A)—C. R. Soc. Biol., 1926, vol. 95, p. 1430.

WENSLAW (A)—C. R. Soc. Biol., 1927, vol. 97, p. 970.

Sobre algumas anophelinas encontradas no Brasil.

Pelo Dr. A. da COSTA LIMA.

Sob a direcção do Dr. ALCIDES GODOY, chefe de serviço do Instituto Oswaldo Cruz, será brevemente inaugurada em Estrella, na baixada do Estado do Rio, uma estação experimental de malária, onde poderão ser convenientemente estudadas as principaes questões relativas á epidemiologia e á prophylaxia dessa doença em nosso meio.

Do programma de pesquisas a serem effectuadas na referida estação consta o estudo da biologia e especialmente da ethologia de algumas das nossas anophelinas transmissoras do paludismo, sendo as mesmas observadas em condições as mais aproximadas possiveis das naturaes.

Antes de iniciar esse estudo, achou GODOY conveniente ficar preliminarmente elucidada a questão referente á systematica de taes insectos.

Não se achando actualmente no Instituto os technicos que ultimamente se dedicaram ao estudo das anophelinas brasileiras, foi-me dada a incumbencia de examinar o assumpto, emittindo parecer sobre a determinação das especies mais importantes do genero *Cellia*.

Ao abordar a questão, encontrei-a encarada sob dois aspectos bem differentes.

De um lado, os especialistas brasileiros considerando principaes especies perfeitamente distinctas de *Anopheles* do grupo *Cellia*: *Anopheles argyritarsis*, *A. albimanus* e *A. tarsimaculatus*. De outro, um pesquisador norte americano, METCALF ROOT (38), distinguindo, em algumas dessas especies, outras não reconhecidas por aquelles pesquisadores e considerando algumas dellas não existentes em zonas em que têm sido assignaladas por aquelles especialistas.

Como nunca me occupara com a systematica dos culicideos, evidentemente não podia formar qualquer juizo sobre pareceres tão desencontrados sem examinar devidamente o material sujeito a controversia. Para isso procurei estudal-o adoptando a uma technica recommendavel em taes casos: retirar de cada fóco larvas bem desenvolvidas, isolal-as separadamente em vidros, montando a exuvia larval logo após a 1ª metamorphose e ulteriormente a exuvia pupal, após a emergência das formas adultas; em seguida, proceder o exame comparativo dessas diversas formas evolutivas, conjuntamente com o das imagens obtidas nas criações e apanhadas em liberdade, estudando sobretudo a genitalia dos machos.

Baseado nas pesquisas até agora executadas, posso dizer que as verificações identicas feitas por METCALF ROOT são exactas. Vejo-me assim tentado a acreditar que as demais observações desse autor sejam também correctas e que o seu trabalho represente o *verdictum* na questão das especies do grupo *Cellia* (dos autores) ou, como elle as considera, do genero *Anopheles*, subgenero *Nyssorhynchus*.

Nas notas que se seguem estudarei apenas algumas dessas espécies, occupando-me especialmente com as que eram tratadas pelos autores brasileiros, ora no genero *Cellia*, ora no genero *Anopheles*.

Seria dispensavel qualquer consideração sobre o nome generico dessas espécies caso fossem correctamente designados em nosso meio. Entretanto, a julgar pela leitura de alguns trabalhos nacionaes, parece ainda prevalecer a opinião de serem as mesmas incluídas no genero *Cellia*, o que não mais se justifica, como passo a expôr.

THEOBALD (40), antes de descrever em sua monographia (1903) o genero *Cellia* como novo genero, apresentou, a 13 de Junho de 1902, uma classificação das anophelinas, na qual descreve os novos generos: *Grassia*, *Stethomyia*, *Howardia*, *Rossia*, *Laverania* e *Cellia*.

Desses generos, no momento, apenas nos interessam os dois ultimos. Para o genero *Laverania* (que differenciou de *Cellia* por apresentar as escamas abdominaes em tufos lateraes e em manchas dorsaes, enquanto que neste ultimo genero o abdomen, além dos tufos lateraes, é totalmente escamoso), apresenta como genotypo: *argyritarsis* ROB. DESV.

Para o genero *Cellia*, dá como genotypo: *pharoensis* THEOB.

Dias depois (a 28 de Julho) BLANCHARD, em comunicação apresentada á Societé de Biologie (1), propoz o nome *Nyssorhynchus*, em substituição a *Laverania* (THEOBALD (non GRASSI & FELLETTI, 1890). Consequentemente: *argyritarsis*, especie typo de *Laverania* e não do genero *Cellia*, passou a ser designada *Nyssorhynchus argyritarsis*. Quanto ao genero *Cellia*, só podia permanecer tal como foi creado, isto é, compreendendo *pharoensis* THEOBALD, como genotypo e outras anophelinas que lhe são affins. Ora, sendo as espécies deste ultimo grupo perfeitamente caracteristicas e bem distinctas das que constituem o genero *Nyssorhynchus*, exclusivamente neotropico, não se pôde considerar como espécies de *Cellia*: *argyritarsis*, *albimanus*, *tarsimaculatus* e outras congenères. Aliás, o modo de vêr dos pesquisadores patricios era perfeitamente justificado, pois o proprio THEOBALD, em sua monographia, e os autores que o seguiram, juntaram espécies typicas de *Nyssorhynchus* com as do genero *Cellia*, estabelecendo-se assim a confusão, que só poudo ser esclarecida depois dos estudos recentes da systematica destes insectos, baseados sobretudo no exame da genitalia dos machos.

Como disse, os especialistas modernos consideram-nas hoje como espécies do genero *Anopheles*, subgenero *Nyssorhynchus*, pois, na sua maioria, ou admittem na tribu Anophelini apenas o genero *Anopheles*, subdividido em varios subgeneros, ou dois generos: *Anopheles* e *Chagasia* (ROOT).

Todavia, a opinião que me parece mais acertada, respeito aos grupos genericos dessa tribu, é a de CHRISTOPHERS (9). Eis o que diz esse autor: "My personal bias is towards the recognition, as genera, of five distinct stems, *Chagasia*, *Bironella*, *Anopheles*, *Nyssorhynchus*, and *Myzomyia*. Each of these is precisely determinable by the male genitalia characters, so much so that no case recorded is there a single intermediate form known; nor is it easy to see how any of the known types could directly pass from one condition to another. These stems have a distinctive distribution such is seen for example in genera of mammals".

O autor citado ainda se estende em outras considerações que, a meu

ver, demonstram a necessidade de se elevar a categoria generica os grupos por elle ainda tratados em seu catalogo como subgeneros e talvez outros, como *Stethomyia*, ainda não devidamente estudados.

Eis porque, baseado na autoridade de CHRISTOPHERS, considereirei as especies que vou estudar, como pertencentes ao genero *Nyssorhynchus* e não ao genero *Anopheles*, subgenero *Nyssorhynchus*.

As especies de *Nyssorhynchus* podem ser distribuidas em 2 subgeneros: *Nyssorhynchus* e *Kerteszia*. O ultimo comprehende especies bem definidas, cujas larvas são bromelicolas. O primeiro abrange as especies de *Cellia* dos autores. Quanto ás especies do grupo *Myzorhynchella*, ainda não está definitivamente assentada a sua verdadeira posição systematica, pois se CHRISTOPHERS as incluiu no subgenero *Nyssorhynchus*, fello tão sómente baseado em informação que lhe foi prestada por M. ROOT.

Realmente ROOT, em trabalho publicado em 1923 (36), diz que as especies de *Myzorhynchella* deviam pertencer ao subgenero *Nyssorhynchus*. Todavia, no anno seguinte (37), corrigindo esse trabalho, declarou ter ulteriormente verificado que o exemplar que lhe servio para fazer aquella afirmação não era a *Myzorhynchella lutzii*, como então julgara, e sim um verdadeiro *Nyssorhynchus*, talvez identico ao *Anopheles (Nyssorhynchus) brasiliensis*. Todavia, é provavel que o referido autor, com o abundante material que levou do Brasil, ainda elucide a questão, dizendo se *Myzorhynchella* deve constituir um grupo á parte, ficando assim o genero *Nyssorhynchus* com mais esse subgenero.

No subgenero *Nyssorhynchus* devem ser consideradas as seguintes especies:

Grupo A:

argyritarsis ROBINEAU-DESVOIDY, 1827.

albitarsis ARRIBALZAGA, 1878.

brasiliensis CHAGAS, 1907.

allopha LUTZ & PERVASSU', 1921.

rooti BRÈTHES, 1926.

darlingi ROOT, 1926.

Grupo B:

albimanus WIEDEMANN, 1821.

tarsimaculata GOELDI, 1905.

oswaldoi PERVASSU', 1922.

rondoni NEIVA & PINTO, 1922.

triannulata NEIVA & PINTO, 1922.

cuyabensis NEIVA & PINTO, 1923.

bachmanni PETROCCHI, 1925.

strodei ROOT, 1926.

evansi BRÈTHES, 1926.

davisi PATERSON & SHANNON, 1927.

perezi SHANNON & DEL PONTE, 1928.

Propositalmente separei-as em 2 grupos, o primeiro (grupo A) comprehendendo as especies que apresentam os 3 ultimos tarsaes do par pos-

terior totalmente brancos e o segundo (grupo *B*) abrangendo as que os apresentam também brancos, porém com um ou mais anéis negros.

Occupar-me-ei separadamente de cada um delles, estudando em primeiro lugar as espécies de tarsos posteriores anelados. Neste ultimo grupo devem ser consideradas, primeiramente as espécies que apresentam apenas um anel preto (I), isto é, *albimanus*, *tarsimaculata*, *oswaldoi*, *strodei*, *evansi*, *davisi* e *perezi*; em seguida, as de mais de um anel preto nos tarsos posteriores (II), isto é, *rondoni*, *triannulata*, *cuyabensis* e as formas duvidosas—*gorgasi* DYAR & KNAB e *tarsimaculatus*, raça do interior da Guyana Hollandeza, de BONNE.

Grupo *B* (Espécies que apresentam os 3 ultimos articulos tarsaes brancos, porém com um ou mais anéis negros):

I. (Um anel preto apenas na base do ultimo tarso):

1. *Nyssorhynchus* (*Nyssorhynchus*). *albimanus* (WIEDEMANN, 1821) (1).

E' possível que se encontre esta espécie no Brasil, porém, até agora, não foi assinalada por quem a tenha comparado com os topótipos.

Até bem pouco tempo acreditava-se que a unica diferença entre *albimanus* e *tarsimaculatus* consistia na maior ou menor extensão das partes brancas dos palpos. Em *tarsimaculatus* os dois ultimos segmentos dos palpos são brancos, excepto nas bases; em *albimanus*, são brancos o ultimo segmento e, do penultimo, apenas a articulação. Ora, no verdadeiro *albimanus*, como verificaram DYAR & KNAB e recentemente ROOT, a coloração dos palpos varia consideravelmente, encontrando-se especimens que certamente seriam considerados como pertencentes á especie *tarsimaculatus*.

Entretanto, como demonstrou ROOT, as duas espécies devem ser perfeitamente distinctas. Examinando a genitalia dos machos de exemplares de *albimanus* da collecção do U. S. National Museum, apanhados no Panamá, e de outros colligidos em Porto Rico, e comparando-a com a de exemplares de *tarsimaculatus* procedentes do Brasil, esse pesquisador encontrou notavel diferença nos lobulos dorsaes da pincetta (*claspette*), como se pôde ver nas figuras de ROOT, que aqui apresento (fig. 1). Dahi elle acreditar que á informação mais correcta sobre a distribuição geographica desta especie seja a apresentada na monographia de HOWARD, DYAR e KNAB (1917, pp. 978 e 984).

Em um dos seus mais recentes trabalhos (38), o mesmo autor nos informa não ter obtido especimens de *albimanus* no Brasil e, baseando-se na verificação dos caracteres genitais, dá a seguinte distribuição: Porto Rico, Haiti, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Venezuela e Colombia. Acha também provavel que esta espécie se encontre na costa occidental da America Central e da America do Sul e em certas partes da America.

Carecem pois ser confirmadas todas as referencias feitas a *albimanus* no Brasil, pois é quasi certo que tenham sido consideradas pertencentes a esta especie, não só *tarsimaculatus*, como as espécies *bachmanni* e *strodei*, esta ultima observada e descripta por M. ROOT e *bachmanni*, ainda não assinalada no Brasil, porém por mim encontrada em material colhido em Estrella (E. do Rio) e em outras partes do Brasil.

(1) A synonymia completa desta e das outras espécies que vou estudar encontra-se no catalogo de CHRISTOPHERS ou no recente livro de DYAR—The mosquitoes of America, 1928.

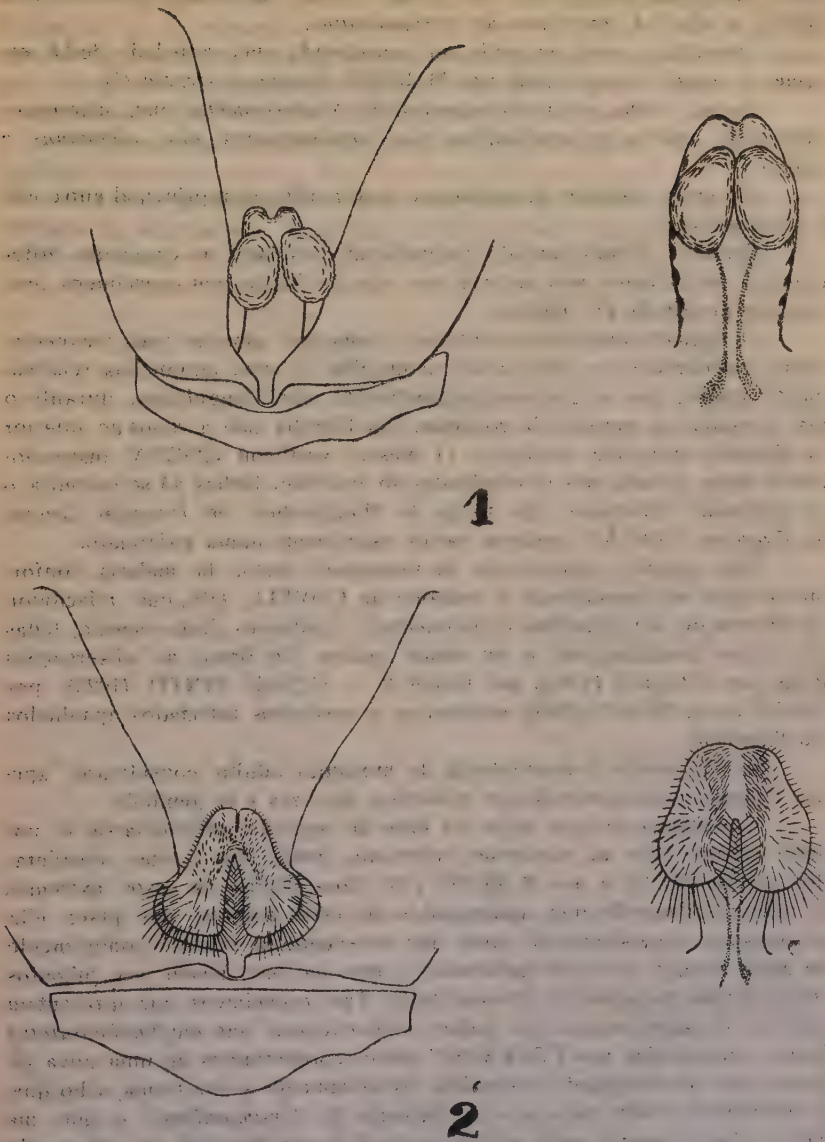


Fig. 1—Lobulos dorsaes reunidos da pincetta (claspette), aspecto dorsal,
(segundo ROOT).

1—de *Nyssorhynchus albimanus*.

2—de *Nyssorhynchus tarsimaculatus*.

2. *Nyssorhynchus* (*Nyssorhynchus*) *tarsimaculatus* (GOELDI, 1905).

Num exame feito com lente de bolso só se póde confundir esta especie, na phase adulta, com a precedente e com o *Nyssorhynchus strodei*. O tamanho bem menor e o aspecto das azas, que se apresentam

quasi totalmente enegrecidas no bordo costal, facilmente differenciam, mesmo a olho nú, *bachmanni* de *tarsimaculatus*.

Oswaldoi, a meu ver, pôde ser considerada uma variedade desta especie, e *evansi*, é considerada por M. ROOT identica a *strodei* (2).

Assim, repito, as unicas especies de *Nyssorhynchus* que, macroscopicamente, podem ser confundidas com *tarsimaculatus* são: *albimanus* e *strodei*.

Já vimos, tratando de *albimanus*, qual a differença principal entre ella e *tarsimaculatus*.

Quanto a *strodei*, quando a considerar, estudarei os caracteres differenciaes assignalados pelo autor e por mim verificados em especimens procedentes de Rincão (S. Paulo).

O *Nyssorhynchus tarsimaculatus* é uma das especies mais frequentemente encontradas em toda região neotropica. É uma anophelina relativamente grande, que se encontra habitualmente em Manguinhos, durante o dia, pousada nas paredes da cocheira. Em Estrella não a vimos no interior de algumas casas que visitámos. O mesmo verificou GODOY inspecionando casas situadas nas proximidades do Instituto. Nellas só se encontra o *N. albitarsis*. Entretanto, não longe de Manguinhos, no Hospital Central do Exercito, ARAGÃO capturou varios especimens numa enfermaria.

Esta especie é considerada um importante vector da malária, conforme se pôde ver consultando o trabalho de COVELL (10), que relacionou as observações de infecções experimentaes e naturaes desta especie, feitas por varios pesquisadores e em varios paizes. No Brasil as observações feitas por CHAGAS (1904), por GODOY e CESAR PINTO (1923), por DAVIS e por BOYD (1926), referem-se a mosquitos infectados apanhados em liberdade.

Relativamente á morphologia do mosquito adulto considerarei apenas o aspecto dos tarsos do par posterior, das azas e da genitalia.

A extensão da area negra na base do segundo articulo tarsal é um tanto variavel. Não me parece ser, entretanto, dentro dos limites considerados por BOYD (4) e por M. ROOT (38). Com effeito, os casos extremos de redução daquella area, assignalados por esses autores, nos quaes ella se apresenta excessivamente curta, não excedendo, ás vezes, o comprimento do anel branco apical do metatarso, a meu ver, não devem ser julgados como simples variações de *tarsimaculatus*. Taes especimens, que apresentam tambem as partes brancas dos palpos mais extensos que em *tarsimaculatus* foram consideradas por PERYASSU' como representantes de uma nova especie, por elle designada—*Oswaldoi*. Relativamente a esta forma, acho que, a se admittir *strodei* como especie distincta de *tarsimaculatus*, o que me parece absolutamente certo, não é razoavel incluir *Oswaldoi* na synonymia desta ultima especie.

Nos exemplares de *tarsimaculatus* por mim examinados, do Districto Federal, dos Estados do Rio e de Minas Geraes, a referida area preta occupa pouco mais de um terço do segundo articulo tarsal, ás vezes, porém, abrange a metade do segmento e em muitos especimens occupa menos de 1/3. Excepcionalmente comprehende apenas o quarto basal.

(2) Quando estudar esta ultima especie tratarei da questão da identidade com *N. evansi*.

Nos espécimens de *oswaldoi* que examinei, o anel preto, no máximo, occupa 15 o/o da extensão do articulo, apresentando-se, na maioria dos espécimens, ou pouco mais extenso que o anel branco apical do metatarso (1o articulo tarsal), ou tão extenso ou mesmo menos extenso e, neste caso, mal se o destaca da cor branca do resto do articulo.

O aspecto das azas de *tarsimaculatus* é característico e pouco variável (fig. 9).

Quanto a genitalia desta espécie, invariavelmente os lobulos dorsaes reunidos da pincetta são densamente pilosos desde o apice, como se pôde ver nas figuras de M. ROOT e na microphotographia que apresento (fig. 10).

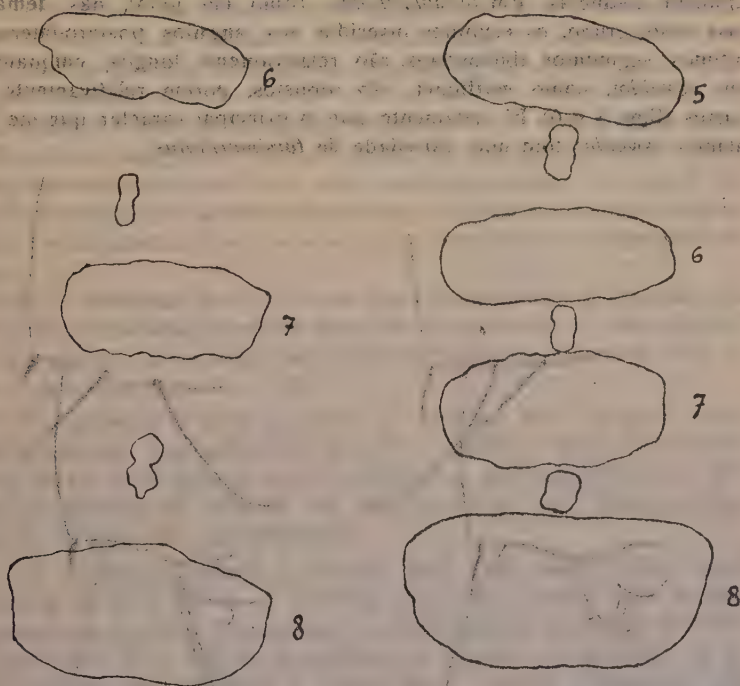


Fig. 2—*N. tarsimaculatus*. Placas dorsaes da larva.

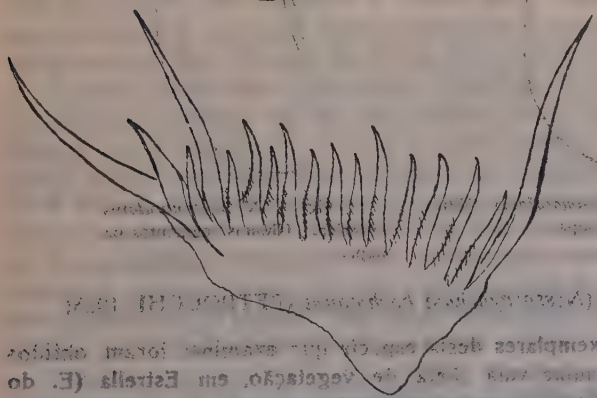


Fig. 3—*N. tarsimaculatus oswaldoi*. Placas e pecten da larva

Aliás o mesmo aspecto se observa nos exemplares de *oswaldoi*, de modo que, a não ser o aspecto dos tarsos do par posterior, não ha, nos mosquitos adultos, outra distincção característica e constante entre *tarsimaculatus* e *oswaldoi*. Quasi que se póde dizer o mesmo com relação ás larvas das duas formas. As manchas negras tão evidentes na cabeça das larvas de *tarsimaculatus* não se vêm nas larvas de *oswaldoi* e a orla negra do bordo posterior da cabeça é nesta ultima forma mais estreita. Notam-se também pequenas diferenças nas placas chitinosas abdominaes e nos pectens, aliás bem pouco características (figs. 2 e 3), nada mais de importante se observando para differenciar as larvas. As pupas, entretanto, podem ser facilmente distintas. Em *tarsimaculatus*, como, em geral, nas demais formas deste grupo, os espinhos inseridos nos angulos postero-lateraes dos ultimos segmentos abdominaes, são relativamente longos, enquanto que em *oswaldoi*, como verifiquei, são robustos, porém relativamente muito curtos (figs. 5 e 6). E' justamente este o principal caracter que me leva a manter *oswaldoi* com uma variedade de *tarsimaculatus*.

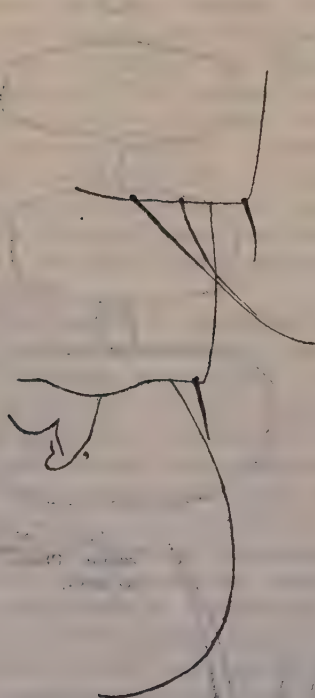


Fig. 5—*N. tarsimaculatus*. Últimos segmentos da pupa.

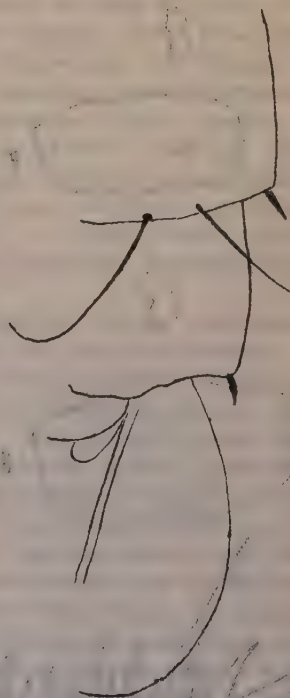


Fig. 6—*N. tarsimaculatus oswaldoi*. Últimos segmentos da pupa.

3. *Nyssorhynchus* (*Nyssorhynchus*) *bachmanni* (PETROCCHI, 1925).

Os primeiros exemplares desta especie que examinei foram obtidos de larvas apanhadas numa vala cheia de vegetação, em Estrella (E. do Rio). Nesse mesmo criadouro encontrei também larvas de *Nyssorhynchus*

albitarsis (ARRIBALZIGA), da variedade descripta por CHAGAS sob o nome de *Cellia brasiliensis*.

Examinando ulteriormente as anophelinas da collecção do Instituto Oswaldo Cruz, encontrei varios especimens de *bachmanni* colhidos em Campos (E. do Rio) e em Matto Grosso pelo Dr. CEZAR PINTO.

ROOT só examinou exemplares do Paraguay, apanhados pelo Dr. SOPER, e da Venezuela.

Parece, assim, que a distribuição geographica desta especie deve ser bem extensa, pois, alem da Argentina, do Paraguay e do Brasil, ella tambem foi encontrada na Venezuela e na Guyana Hollandeza. Incluo este ultimo territorio na área de distribuição porquanto a figura n. 82 apresentada por BONNE para a genitalia de *tarsimaculatus*, em seu manual sobre os mosquitos de Surinam, corresponde exactamente ao aspecto desse aparelho no *N. bachmanni*.

O mosquito adulto é facilmente reconhecivel. De facto é elle o unico *Nyssorhynchus* do subgenero *Nyssorhynchus*, de tamanho reduzido (pois, em geral, apresenta cerca de 3 a 4 mm. de comprimento, da cabeça ao apice do abdomen), que apresenta azas com as 2 grandes manchas negras no bordo costal quasi confluentes e os tarsos annellados como em *tarsimaculatus*.

Em *N. albimanus*, como já ficou dito anteriormente, as manchas da costa são bem separadas, como se pode vêr comparando a microphotographia da aza de um exemplar dessa especie colhido no Panamá, com a da aza de *bachmanni* (figs. 11 e 12).

O *N. cuyabensis* é talvez de todas as especies deste grupo a que mais se assemelha com *bachmanni*, não só no tamanho como no aspecto das azas, porem nessa especie, como assignalaram seus autores e como tive o ensejo de apreciar, ha mais de um anel preto na área branca apical dos tarsos, se bem que mal delimitado.

O *N. bachmanni*, embora de aspecto geral bem caracteristico, varia não somente no porte como na extensão das áreas brancas das pernas. Nos exemplares de Matto Grosso, que se apresentam de exiguas dimensões (a aza tem cerca de 3 mm. de comprimento), a parte preta basal do 2º articulo tarsal do par posterior é maior que a branca, occupando esta pouco mais de 1/4 do articulo, attingindo, porem, ás vezes 1/3 do comprimento desse articulo. Nos articulos dos tarsos do par anterior as áreas brancas do 3º ao 4º articulo são relativamente reduzidas, em comparação com os especimens de Campos (E. do Rio). Assim, no 2º articulo, só o quarto apical é que é branco; no 3º e 4º a parte branca é approximadamente igual á parte preta basal. Nos exemplares de Campos, a parte preta basal do 2º articulo é pouco maior que a branca; no 3º e 4º articulos, a parte branca occupa quasi toda a extensão, ficando apenas uma annel preto basal. Nestes mesmos exemplares, que são tambem maiores que os de Matto Grosso (a aza tem 3,5 mm. de comprimento), nota-se um augmento da área branca apical do 2º articulo dos pares posteriores, a qual é bem mais extensa que a parte preta basal, occupando aquella 2/3 do articulo.

Aspecto identico ao destes ultimos especimens observa-se tambem nos exemplares de Estrellá, que entretanto se apresentam muito pequenos (com azas de cerca de 2,5 mm.), e em alguns cotypos de *Anopheles davisi*,

que me foram gentilmente cedidos pelo Dr. DEL PONTE. Devo dizer que não só esta ultima especie, como a *Anopheles perezii*, foram recentemente incluidas por DYAR na synonymia de *N. bachmanni*.

A genitalia do macho de *bachmanni* é característica. Foi bem descrita e figurada por PETROCCHI e novamente estudada por M. ROOT, que frisou a importancia taxionomica do aspecto dos lobulos dorsaes fundidos da pincta, prolongados no apice em 2 appendices chitinosos, triangulares ou em forma de orelha, como se pode ver nas microphotografias das genitalias que aqui apresento (figs. 13 e 14). Uma foi retirada de um exemplar de Campos e a outra de um especimen de Matto Grosso. O microphotographo focalizou apenas os lobulos dorsaes fundidos da pincta, para melhor se vêr o aspecto dos appendices ha pouco referios. Pode-se tambem verificar que esses orgãos são totalmente desprovidos de pêlos.

As larvas de *N. bachmanni* são tambem características. Apresentam-se, em geral, pretas com 3 manchas brancas, uma maior no thorax, uma no 2º e outra no 5º segmentos abdominaes. Taes manchas são melhor delineadas nas larvas mais jovens, que nas do ultimo estadio. A cabeça é em grande parte negra, notando-se apenas duas áreas mais claras lateraes para traz da inserção das antenas.

As cerdas clypeaes anteriores e internas são um tanto approximadas. O espaço entre ellas é approximadamente igual a metade da distancia entre cada uma e a cerda clypeal antero-externa correspondente.

No grupo de cerdas thoraxicas anterior e submediano ha, de cada lado, uma cerda palmada com 17 foliolos.

Para o lado do abdomen o caracter mais importante é a diferença notavel entre as duas placas chitinosas dorsaes do 8º e do 7º segmentos. Sob este ponto de vista a larva de *bachmanni* assemelha-se muito á de *darlingi*, porem nesta ultima especie, não só as cerdas internas do grupo thoraxico anterior e submediano não são palmadas e sim de ramificações filamentosas, como ha, em cada um dos labios posteriores do aparelho opercular dos estigmas, uma grande cerda, que não se encontra em *bachmanni*, como se pode verificar na figura 15.

As pupas de *bachmanni* nada de extraordinario apresentam. As tubas respiratorias são do typo observado nas demais especies de *Nyssorhynchus*.

Quanto ao papel do *N. bachmanni* na epidemiologia da malária, DYAR em seu recente trabalko sobre os mosquitos da America (14), diz que é, sem duvida, um perigoso transmissor dessa doença. Entretanto, que me conste, ainda não foram publicadas observações nesse sentido. Todavia, como mais cedo ou mais tarde se estudará esse papel, convem assignalar que, sendo uma anophelina muito pequena, pode facilmente atravessar as telas habitualmente usadas na protecção contra os mosquitos.

4. *Nyssorhynchus (Nyssorhynchus) strodei* (ROOT, 1926).

Os unicos exemplares que obtive desta especie foram criados de larvas colhidas pelo Dr. LAURO TRAVASSOS em Rincão, Pinheiro e Guarulhos (São Paulo).

Não ha, como pondera o proprio autor da especie, um caracter externo, absolutamente infallivel, pelo qual se possa distinguir facilmente

esta especie de *N. tarsimaculatus*. E' tambem difficil differencal-a, pelos caracteres geraes, de *N. albimanus*. Entretanto, collocando um exemplar de *strodei* ao lado de um de *tarsimaculatus*, evidenciam-se as differenças, pequenas embora, mas sufficientes para se vêr que se trata de um outro typo de mosquitó. De facto, o *N. strodei* é de menor porte que o *N. tarsimaculatus*. Emquanto que nesta ultima especie as escamas claras do corpo são de cor amarella, naquella só ha escamas amarellas no abdomen e nas pernas; as escamas claras das azas, do mesonotum e do scutellum são de um branco de neve. As azas (fig. 16) e os palpos apresentam tambem algumas differenças em relação com o *N. tarsimaculatus*. O que entretanto caracteriza o *N. strodei* é o aspecto inconfundivel dos lobulos dorsaes da pincetta, na genitalia do macho; como se pode observar na figura 17.

As larvas de *N. strodei*, como demonstrou M. ROOT, são muito semelhantes ás de *N. tarsimaculatus*; nestas, porem, as cerdas clypeaes medianas não são muito approximadas, como em *strodei*. De facto, o espaço entre ellas em *strodei* é, como verifiquei, igual á quarta parte da distancia entre cada uma e a cerda clypeal lateral correspondente, ao passo que em *tarsimaculatus* esse espaço é pouco mais largo que a metade da referida distancia. Ademais, nas larvas de *tarsimaculatus*, os tufos palmados do grupo thoraxico antero-mediano apresentam um menor numero de foliolos (de 10 a 14) e estes são de cor cinzenta uniforme com a extremidade, embora afilada, como que cortada ou aparada.

Nas larvas de *strodei* as referidas cerdas apresentam uma maior numero de foliolos (cerca de 18), de apice muito afilado (fig. 7). Aliás

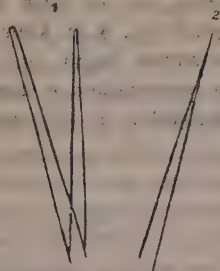


Fig. 7—Aspectos dos foliolos dos tufos palmados do abdomen em *N. tarsimaculatus* e outras especies de *Nyssorhynchus*.

1—*N. tarsimaculatus* e outras especies de *Nyssorhynchus*.

2—*N. strodei*.

este ultimo aspecto, que é constante e me parece bem caracteristico, tambem se observa nos demais tufos palmados do thorax e do abdomen.

Não sei como se apresentam os foliolos dessas cerdas palmadas em *albimanus*, porem em *argyritarsis*, em *abitarsis*, em *darlingi*, em *tarsimaculatus* e em *bachmanni* são tambem cortados na ponta, como em *tarsimaculatus*.

As pupas de *strodei* são praticamente indistinguiveis das de *albimanus* e *tarsimaculatus*.

ROOT, em trabalho publicado recentemente (39) sobre o genero *Chagasia*, referindo-se ao *Nyssorhynchus* que anteriormente descrevera sob o nome de *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *strodei*, considera-o synonymo de *evansi* BRÈTHES. Tambem assim o considera DYAR no seu ultimo trabalho sobre os mosquitos americanos. Nestas condições, ao estudar essa especie, deveria tel-a tratado sob o nome de *Nyssorhynchus evansi* (BRÈTHES) e

não como *N. strodei* (ROOT). A razão dessa discordância é que não estou convencido de que os dois nomes se refiram a uma única espécie.

De facto, a figura que BRÈTHES apresentou para a genitalia de *Cellia evansi* não corresponde nem a descrição, nem ao aspecto do hypopygium de *N. strodei*. Além disso, segundo me informou o Dr. DAVIS, os mosquitos que ele cedeu a BRÈTHES e com os quais este último especialista fundamentou a diagnose específica de *evansi*, eram todos espécimens de *tarsimaculatus*. Aliás, DAVIS narrou também o mesmo facto a DYAR, que o cita em seu último trabalho (1928). Eu mesmo tive o ensejo de observar aspecto semelhante ao do desenho da genitalia da *Cellia evansi*, comprimindo a genitalia de um macho de *bachmanni*.

Assim, ao meu ver, a *Cellia evansi* ainda é muito duvidosa, e enquanto não se examinar o tipo ou os co-tipos de BRÈTHES, não se pode concluir, com absoluta segurança, pela identidade de *strodei* com *evansi*.

Dahi ainda a qui considerar o *N. strodei* do Brasil como uma boa espécie, distinta de *Cellia evansi*, sendo esta última talvez idêntica a *tarsimaculatus*.

II. (Mais de um anel preto na área branca dos tarsos posteriores).

1. *Nyssorhynchus* (*Nyssorhynchus*) *rondoni* (NEIVA e PINTO, 1922).

Os exemplares desta espécie, por mim examinados e gentilmente cedidos ao Instituto Oswaldo Cruz pelo Dr. DEL PONTE, foram todos apanhados na República Argentina pelo Dr. SHANNON.

Trata-se de uma espécie bem diferente das demais deste grupo. Caracterisa-se sobretudo o aspecto da área branca dos tarsos do par posterior. A referida área apresenta dois anéis pretos, um na base do 3º articulo tarsal e outro na base do articulo apical (fig. 8, 1). Além disso ha, no mesonotum de *N. rondoni*, uma grande mancha negra que abrange uma área semi-circular da porção posterior do mesoscutum e cerca dos 2 quartos medianos do scutellum. A microphotographia n. 18, representa a azia desta espécie.

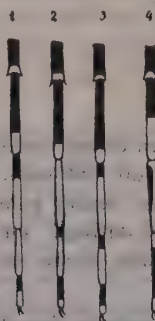


Fig. 8—Aspecto schematico dos tarsos posteriores em :

- 1—*N. rondoni*.
- 2—*N. cayabensis*.
- 3—*N. triannulatus*.
- 4—*N. gorgasi*.

Ainda não foi descrito ou figurado o aspecto da genitalia do macho de *N. rondoni* e nada se sabe relativamente às larvas e pupas desta espécie. Pesquisas realizados recentemente por DAVIS e SHANNON (13) mostram que esta espécie, embora vista em quantidade apreciável no interior das habitações, não foi encontrada infectada. Falharam também as tentativas feitas por esses pesquisadores para obter experimentalmente mosquitos infectados.

2. *Nyssorhynchus* (*Nyssorhynchus*) *cuyabensis* (NEIVA e PINTO, 1923).

Só ha actualmente na collecção do Instituto Oswaldo Cruz um unico exemplar desta especie, aliás em máo estado de conservação. Pode-se, entretanto, ainda verificar que se trata de um mosquito extremamente semelhante ao *N. bachmanni*. Como elle, é uma especie de pequeno porte, com as azas quasi totalmente negras no bordo costal (fig. 16). Não fosse o aspecto da área branca dos tarsos posteriores e não haveria outra differença para distingui-la do *N. bachmanni*.

Como em *N. rondoni*, ha em *cuyabensis* 2 anneis naquella área, porém o anel proximal não se acha no 3º articulo, que é todo branco, e sim na base do 4º (fig. 8, 2).

Tambem nada se sabe relativamente a ethologia desta especie. O mesmo posso dizer em referencia ao *Nyssorhynchus* (*Nyssorhynchus*) *triannulatus* (NEIVA e PINTO, 1922), descripto de uma unica femea apanhada em Matto Grosso.

Esta especie, segundo os autores, distingue-se de todas as outras deste grupo, por apresentar, na área branca apical, 3 anneis negros na base de cada um dos 3 ultimos articulos dos tarsos posteriores (fig. 8, 3).

Como não conheço o mosquito, pois o typo não se encontra actualmente na collecção do Instituto Oswaldo Cruz, deixo de sobre elle me manifestar.

Ao terminar esta parte, em que estudo sómente as especies que apresentam a área branca apical dos tarsos posteriores com 1 ou mais anneis, não posso deixar de dizer algumas palavras sobre a raça de *tarsimaculatus* do interior da Guyana Hollandeza, estudada por BONNE (2) e sobre *Anopheles gorgasi*, de DYAR e KNAB.

A primeira deve ser a variedade *oswaldoi* do *N. tarsimaculatus*, já anteriormente estudada. As observações interessantes de BONNE relativamente as habitos dessa raça no interior da Guyana Hollandeza, reforçam, até certo ponto, as differenças morphologicas assignaladas por PERYASSU', quando descreveu essa variedade como uma nova especie.

Quanto á especie *gorgasi*, penso que, aceitando-se o *N. triannulatus* como especie distincta, não ha razão para não se admittir aquella como boa especie, pois exactamente o que a caracteriza é o aspecto dos tarsos posteriores, completamente differente do que se observa nas demais especies de *Nyssorhynchus*, como se pode ver na figura schematica que aqui apresento, copiada do trabalho de BONNE (2), que a desenhou segundo a descripção de DYAR e KNAB (fig. 8, 4).

Grupo A. (Especies que apresentam os 3 ultimos articulos tarsaes do par posterior brancos).

Deste grupo, como mostrei anteriormente, foram descriptas as seguintes especies:

- argyritarsis* ROBINEAU-DESVOIDY, 1827.
- albitarsis* ARRIBALZAGA, 1878.
- brasiliensis* CHAGAS, 1907.
- allopha* LUTZ & PERYASSU', 1921.
- rooti* BRÉTHES, 1926.
- darlingi* ROOT, 1926.

De todas ellas apenas 3 podem permanecer como verdadeiras especies: *argyritarsis*, *albitarsis* e *darlingi*.

Com effeito, os caracteres de *Celtia allopha* LUTZ & PERYASSU são exactamente identicos aos que se encontram nas descripções do verdadeiro *Nyssorhynchus argyritarsis* (ROB.—DESV.). Como se sabe, a ausencia de tufos de escamas erectas nos angulos lateraes posteriores dos segmentos abdominaes foi o caracter frisado, pela maioria dos nossos especialistas, para distinguir a forma *allopha* de *argyritarsis*. Ora, a anophelina deste grupo que sempre apresenta taes tufos é o *Nyssorhynchus albitarsis*, considerada em nosso meio ou como *Celtia argyritarsis* ou como *Celtia brasiliensis*. Assim sendo, era natural que os especimens do verdadeiro *N. argyritarsis* fossem julgados uma nova especie, a qual foi denominada *Celtia allopha*.

De facto, todos os exemplares de *N. argyritarsis* que tenho examinado (de Manguinhos, de Angra dos Reis (E. do Rio), de Minas Geraes e da R. Argentina), apresentam algumas escamas negras nos angulos postero-lateraes do abdomen, porem estas não constituem tufos tão evidentes como em *N. albitarsis*. Resta, entretanto, saber se ha realmente exemplares de *N. argyritarsis* providos desses tufos. Eu ainda não os vi; todavia, mesmo que se os encontre, se for essa a unica differença que os distinga da forma *allopha*, não haverá razão para se considerar esta ultima nem mesmo como variedade distincta de *argyritarsis*.

Relativamente a especie descripta por BRÈTHES com o nome de *C. rooti* unicamente pelo aspecto da genitalia do macho, é possível que se trate da mesma que foi ulterioemente descripta por M. ROOT sob o nome de *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi*, e, neste caso, aquelle nome prevalecerá por ter prioridade e a especie será mantida, pois o aspecto da genitalia e sobretudo da larva em *darlingi* é bem differente do que se observa em *N. argyritarsis* e em *N. albitarsis*. Tudo porem leva a acreditar que *C. rooti* seja mais um nome a acrescentar na synonymia de *N. argyritarsis*.

Quanto a *Celtia brasiliensis*, é, como demonstrou ROOT (1926) uma simples variedade de *Celtia albitarsis*.

Consequentemente, terei de estudar, neste grupo, apenas o *N. argyritarsis*, o *N. albitarsis*, com a variedade *brasiliensis* e o *N. darlingi*.

1. *Nyssorhynchus (Nyssorhynchus) argyritarsis* (ROBINEAU-DESVOIDY, 1827).

Distinguem-se facilmente as femeas desta especie das de *N. albitarsis* pelos caracteres que se seguem. Palpos, visto de cima, negros em quasi toda a extensão; apenas ha escamas brancas revestindo todo o segmento apical e formando dois anneis, um mais largo ao nivel da articulação do penultimo segmento com o antepenultimo e outro ao nivel da articulação deste com o precedente. As escamas claras das azas são, em geral, de um branco de neve, principalmente para o lado da costa. Embora haja escamas negras nos angulos postero-lateraes do abdomen, estas não formam tufos erectos, como em *albitarsis*. Os 2 ultimos segmentos abdominaes da fema não são revestidos dorsalmente de escamas brancas. Os tarsos medios quasi sempre se apresentam sem anneis brancos no apice do 1º, do 2º e do 3º articulos. Os posteriores não apresentam anel branco no apice do 1º arti-

culo e a parte negra basal do 2º occupa $\frac{1}{4}$ ou $\frac{1}{3}$ da extensão do articulo. Raramente é mais extensa, e quando isso se observa, não ha annel branco apical no 1º articulo.

Quanto aos machos, é muito facil differenciar as duas especies em questão pelo exame da genitalia. Em *argyritarsis* o mesosoma apresenta um par de foliolos recurvados e bem chitinizados, os quaes, nas preparações em que se comprime a genitalia, se apresentam denteados (fig. 21).

Tambem as larvas de *argyritarsis* são bem differentes das de *albitarsis*. Nellas as cerdas clypeaes medianas são entre si approximadas e bem afastadas das lateraes. O espaço entre uma das medianas e a lateral correspondente é cerca de 5 vezes o que fica entre as medianas. As antenas geralmente são claras na base e escuras do meio para o apice. Só ha 6 pares de tufos palmados entre as placas dorsaes do abdomen. Nos pontos do thorax em que, em *albitarsis*, se implantam os tufos palmados, encontram-se cerdas de ramificações filamentosas, observando-se o mesmo no espaço entre a 1ª e a 2ª placa dorsal do abdomen. As pupas de *argyritarsis* são muito semelhantes as de *albitarsis*, sendo bem difficil distinguilas.

Quanto ao papel do *N. argyritarsis* na transmissão da malaria comparado com o do *N. albitarsis*, parece ser de importancia secundaria. De facto, todas as observações publicadas em nosso meio dando o *N. argyritarsis* como naturalmente infectado, mui provavelmente se referem ao *N. albitarsis*. Por outro lado as pesquisas feitas em nosso paiz com a *Cellia allopha*, que deve ser o *N. argyritarsis* typico, não revelaram até hoje a existencia de exemplares infectados.

2. *Nyssorhynchus* (*Nyssorhynchus*) *albitarsis* (ARRIBALZAGA, 1878).

Quem examina um exemplar desta especie não pode deixar de se impressionar com a grande semelhança que ella offerece com o *N. tarsimaculatus*. De facto, apresenta quasi todas os caracteres desta ultima especie, excepto o annel negro no articulo apical dos tarsos posteriores. E a semelhança das 2 formas ainda mais se accentua nas larvas e nas pupas, que, na pratica, difficilmente podem ser diferenciadas. Os palpos, em geral, apresentam-se como em *N. tarsimaculatus*. As escamas claras das azas são amarelladas. Os tufos de escamas negras nos angulos postero-lateraes do abdomen são tambem salientes. O ultimo segmento do abdomen é revestido dorsalmente de escamas amarelladas entremeiadas de escamas brancas, que, ás vezes, são mais abundantes que as amarellas. Os tarsos medios apresentam o 1º, o 2º, o 3º, e ás vezes o 4º e o 5º distinctamente annelados de branco no apice. Os posteriores apresentam um annel branco no apice do 1º articulo e a parte negra basal do 2º, embora extraordinariamente variavel, nunca se encontra tão pequena como em *argyritarsis*. Realmente, nesta ultima especie, é raro ver-se a mancha negra attingir ou exceder o meio do segmento; frequentemente occupa o quarto, ou, no maximo, o terço basal do articulo, emquanto que em *albitarsis* ella é igual ou maior que a parte branca apical. Assim, em exemplares da baixada do Districto Federal e do Estado do Rio, a parte preta occupa mais de metade do articulo. Em exemplares de Minas Geraes ella é um pouco mais extensa (cerca de $\frac{66}{100}$ do articulo). Em uma serie de exemplares de Matto Grosso

é ainda maior, abrangendo de 70 a 78 o/o do articulo. Finalmente, em alguns especimens de Pinheiro e de Guarulhos (S. Paulo), occupa quasi todo o segmento (de 85 a 89 o/o). E' interessante notar que alguns destes ultimos exemplares apresentam muitas escamas brancas do dorso do ultimo e do penultimo uromeros (v. aza de um destes exemplares, fig. 23).

Os machos de *albitarsis* tambem se parecem com os de *tarsimaculatus*, porem, como as femeas, não apresentam anel preto no articulo apical dos tarsos posteriores. Distinguem-se dos de *argyritarsis*, não sómente pelos caracteres já referidos a proposito da femea, como pelo aspecto do mesosoma da genitalia. Em *albitarsis*, alem desse órgão ser pouco chitinizado no apice, não apresenta os 2 foliolos caracteristicos, tão bem estudados por EDWARDS (1920), EVANS (1921) e ROOT (1926).

As larvas de *N. albitarsis*, como disse, são muito semelhantes ás de *N. tarsimaculatus*, e é mesmo praticamente impossivel apresentar um caracter infalivel para o reconhecimento das 2 especies. Todos os caracteres que foram assignalados por M. ROOT para distincção das duas especies de larvas são sujeitos a variações individuaes, que nos podem levar facilmente á confundil-as.

Essa confusão, entretanto, não se pode dar com as larvas de *argyritarsis*, pois em *albitarsis*, como em *tarsimaculatus*, ha tufo palmado no grupo de cerdas thoraxicas anteriores e entre a 1ª e a 2ª placa dorsal do abdomen, semelhantes aos demais do abdomen. Alem disso, em *albitarsis*, o espaço entre as cerdas clypeaes médias é igual ou quasi igual ao que fica entre uma dessas cerdas e a cerda lateral correspondente.

Pelo que tenho lido e pelas informações que pude colher até agora, tenho a impressão de que o *N. albitarsis*, no Brasil, é a anophelina mais importante sob o ponto de vista da epidemiologia da malaria. E' ella que se encontra habitualmente no interior das habitações, nas zonas assoladas por aquella doença, e todas as referencias feitas a mosquitos da especie *argyritarsis*, natural ou experimentalmente infectados, pelas razões já expendidas, devem ser applicadas ao *N. albitarsis*.

Antes de concluir o que posso dizer relativamente a esta especie devo ainda considerar a forma descripta por CHAGAS sob o nome de *Cellia brasiliensis*.

ROOT estudou-a perfeitamente e, por isso, transcrevo para aqui o que elle disse em seu admiravel trabalho sobre as nossas anophelinas (1926).

"A femea adulta differe definidamente, embora por pequenos caracteres, de qualquer das outras especies brasileiras por mim estudadas, aproximando-se mais de *argyritarsis* que de *albitarsis*. A genitalia do macho parece ser identica a do macho de *albitarsis* e as larvas de *brasiliensis* e de *albitarsis* são tambem praticamente identicas. Nesse caso, retenho o nome dado pelo Dr. CHAGAS como o de uma variedade, classificando-a, porem, sob a especie *albitarsis*.

Differe esta variedade evidentemente de *albitarsis* typica por occupar a area negra do 2º articulo de tarsos posteriores menos de metade dos articulos e pela ausencia do anel branco na extremidade do 1º articulo tarsal. Por estes caracteres ella se assemelha a *argyritarsis*. Differe, porem desta ultima especie, não sómente pelos tres caracteres assignalados pelo

Dr. CHAGAS na sua descripção original (tamanho menor, os dois ultimos segmentos abdominaes da fema dorsalmente revestidos de escamas brancas e a distribuição relativamente esparsa das escamas cremes nos demais segmentos abdominaes), como tambem pelo que se segue. Em *brasiliensis* os articulos dos tarsos medianos geralmente apresentam pelo menos 2 aneis brancos, ordinariamente ausentes em *argyritarsis*. Na aza de *brasiliensis* a mancha branca costal ao nivel da nervura transverso-humeral é approximadamente de igual extensão a da mancha preta precedente (a área branca é evidentemente mais larga em *argyritarsis*). O apice do ramo inferior da 2ª nervura, a forquilha da 4ª e a maior parte do tronco da 4ª são geralmente revestidos de escamas brancas em *argyritarsis* e de escamas negras em *brasiliensis*".

Examinei varios mosquitos da especie *N. albitarsis*, obtidos de larvas colhidas em Estrella e em Manguinhos, os quaes devem ser considerados como pertencentes á variedade *brasiliensis*, pois a fema apresenta os caracteres assignalados por CHAGAS.

Desses caracteres o que parece mais importante é o que se refere ás escamas nos dois ultimos segmentos abdominaes. Ao obter, de larvas do mesmo fôco e exactamente semelhantes, mosquitos com os caracteres de *brasiliensis*, verifiquei que se a maioria dos exemplares apresenta esses segmentos inteiramente revestidos de escamas brancas, ha outros em que estas só revestem o ultimo, sendo o penultimo coberto de escamas amarelladas. E em taes especimens tambem se observa um annel apical branco, embora muito estreito, no apice do 1º articulo dos tarsos posteriores e a parte negra do 2º articulo tarsal occupa, em geral, a metade do articulo.

Em exemplares de Campos, cujos machos apresentam os 2 ultimos segmentos abdominaes revestidos de escamas brancas, as femeas apresentam ou esses segmentos inteiramente revestidos de escamas amarelladas, ou somente o ultimo com escamas brancas, ou tambem o penultimo com algumas escamas brancas. Nesses exemplares, em geral, a parte negra basal do 2º articulo dos tarsos posteriores é um pouco menos extensa que a branca, porem ha muitos em que as duas partes são de igual extensão, havendo tambem alguns especimens em que a parte branca é pouco menos comprida que a negra. E todos esses exemplares foram apanhados no mesmo local e na mesma occasião. Apresentam tambem um annel branco no apice do 1º articulo dos tarsos posteriores. Todos, entretanto, tem o aspecto geral de *N. albitarsis* typico e, sob este ponto de vista, differem um pouco dos exemplares de Estrella. DAVIS, ultimamente (12), teve tambem o ensejo de observar exemplares typicos de *albitarsis* com os dois ultimos segmentos abdominaes sómente revestidos de escamas brancas.

Os machos de *brasiliensis* são muito semelhantes aos de *albitarsis*, principalmente no aspecto da genitalia.

Pelo exposto, ve-se que ROOT, mantendo *brasiliensis* como uma variedade perfeitamente distincta de *albitarsis* typica, frisou caracteres que, na pratica, nem sempre se observam como elle os descreveu.

Quanto ás larvas de *brasiliensis* o unico caracter que me parece mais constante para distinguir *brasiliensis* de *albitarsis*, aliás tambem referido por M. ROOT, é o alongamento das cerdas clypeas medianas, que se apresentam bem mais compridas que as lateraes. Todavia SHANNON e DA-

VIS (12) observaram muitas larvas, com cerdas clypeaes medianas alongadas, que, entretanto, deram mosquitos do verdadeiro *typo albitarsis*.

Assim, embora adoptando a opinião de ROOT relativamente a *brasilensis*, pois só elle examinou especiméns desta variedade colhidos no local em que foram apanhados os cotypos, penso que a questão de se a considerar como uma variedade ou como simples variação de *albitarsis*, ainda não se acha definitivamente resolvida.

Em favor da separação de *brasilensis* como variedade distincta de *albitarsis* fallam as observações de CHAGAS, NEIVA, GODOY e C. PINTO e ROOT relativas ao comportamento desta especie. Todos esses autores são accórdes em affirmar que *brasilensis* é uma anophelina que pica de dia, mesmo em plena luz solar.

Nyssorhynchus (Nyssorhynchus) darlingi (ROOT, 1926).

Ainda não tive o ensejo de vêr o mosquito adulto desta especie, segundo ROOT, muito semelhante ao *N. albitarsis*. Apenas em *darlingi* a extremidade do abdomen apresenta menos escamas brancas que em *albitarsis* e a parte negra basal do 2º articulo dos tarsos posteriores, em geral, occupa menos da metade do articulo, abrangendo, em casos extremos, 49 o/o do comprimento desse articulo. Todavia, se ha essa grande semelhança das femeas de *darlingi* com as de *albitarsis*, os machos são bem diferentes pelo aspecto da genitalia. De facto, em *darlingi* o mesosoma apresenta um par de foliolos semelhantes aos que se encontram em *argyritarsis*. A proposito da genitalia de *darlingi*, diz ROOT o seguinte:

"The mesosome is longer and more slender than in the other two species (*albitarsis* e *argyritarsis*) and the tip is even more heavily chitinated than in *argyritarsis*. The ventral lip is more prolonged than in the other species. A pair of long, straight leaflets are present and seem to be attached near instead of at their base, so that there is a short, blunt-ended portion extending cephalad. The leaflets are not obviously serrate. The dorsal lobes of the claspette are low, not as long as the mesosome, and have a truncate apex. In some preparations their truncate portion appears to bear sparse, short hairs."

A larva de *darlingi* é, como bem diz ROOT, unica entre todas as larvas de anophelinas. De facto, nenhuma apresenta as duas cerdas robustas, emergindo de tubérculos salientes situados nos labios posteriores do aparelho opercular dos estigmas. Tal disposição pôde ser bem apreciada na microphotographia (fig. 25), de parte do tegumento de uma larva de *N. darlingi* que encontrei morta num vaso em que criava larvas de *N. argyritarsis*, colhidas em Angra dos Reis (Estado do Rio) pelo Dr. L. TRAVASSOS.

Embora a larva de *darlingi* se assemelhe á de *albitarsis* pelo aspecto geral do corpo, não apresenta, como esta, tufos palmados no grupo sub-mediano e anterior de cerdas thoraxicas. No lugar dos tufos ha cerdas identicas ás que se encontram em *argyritarsis*, isto é, divididas em ramificações filamentosas.

Também em *darlingi* a 8ª placa dorsal do abdomen é muito maior que a 7ª, como se pode também apreciar na microphotographia. Por esta última disposição ella se assemelha á larva de *N. bachmanni*. Também a côr da cabeça e das antennis, até certo ponto, a fazem semelhante á lar-

va de *bachmanni*. Como em *bachmanni* a cabeça é negra, excepto ao nível das áreas oculares, que são incolores, e as antenas são mais enegrecidas na metade apical.

As pupas de *darlingi*, como mostrou ROOT, são também diferentes das demais pupas deste grupo, não só pela forma das tubas respiratorias, como pelo aspecto dos espinhos postero-lateraes dos ultimos segmentos abdominaes, que são muito curtos e robustos, como em *N. tarsimaculatus oswaldoi*. Nesta variedade, porem, as tubas respiratorias são do typo normalmente observado nas demais pupas de *Nyssorhynchus*.

ROOT encontrou esta especie no Districto Federal e na baixado do Estado do Rio. Em Porto das Caixas capturou, no interior das habitações, *albittarsis* e *darlingi*, em igual quantidade. Em Saint'Anna, porem, encontrou-a dentro das casas em maior quantidade que *albittarsis*.

Nada se sabe, porem, relativamente á possibilidade de transmittir a malária.

CHRISTOPHERS, em seu catalogo, já caracterizou perfeitamente o genero *Nyssorhynchus*, subgenero *Nyssorhynchus*. Aliás as especies que o constituem são, como vimos, as que eram incluídas no genero *Celia* na maioria dos trabalhos brasileiros de systematica das anophelinas.

Por isso, ao concluir este trabalho, deixo de lado a caracterisação do grupo *Nyssorhynchus* e apresento tão somente as chaves para a determinação das especies que o constituem, orientando-me principalmente nas que foram apresentadas por CHRISTOPHERS e ROOT.

1	Fêmeas	2
1a	Machos	13
2 (1)	Ultimo articulo dos tarsos posteriores (5º) com anel negro basal	3
2a	Ultimo articulo dos tarsos posteriores todo branco	10
3 (2)	Penultimo articulo (4º) com anel negro basal	4
3a	Penultimo articulo (4º) todo branco	5
4 (3)	Antepenultimo articulo (3º) com um anel negro basal. <i>triannalatus</i>	
4a	Antepenultimo articulo (3º) todo branco. <i>cuyabensis</i>	
5 (3a)	Antepenultimo articulo (3º) com um largo anel preto basal; uma grande mancha escura abrangendo a parte mediana posterior do mesonotum e todo o meio do scutellum. <i>rondoni</i>	
5a	Antepenultimo articulo (3º) todo branco, mancha posterior do mesonotum pequena	6
6 (5a)	Especie pequena, com as 2 grandes manchas negras da costa quasi confluentes. <i>bachmanni</i>	
6a	Especies grandes ou pequenas, porem com as 2 grandes manchas negras da costa bem separadas	7
7 (6a)	Parte negra basal do 2º articulo dos tarsos posteriores tão extensa ou pouco mais extensa que o anel branco apical do 1º articulo. <i>tarsimaculatus oswaldoi</i>	
7a	Parte negra basal do 2º articulo dos tarsos posteriores, no minimo, occupando um quarto do comprimento do articulo, porem, em geral muito mais extensa	8

8. (7a) Palpos com os 2 últimos artículos brancos ou revestidos de escamas de côr crême, excepto num estreito annel nas bases; especie de grande porte..... *tarsimaculatus*
- 8a Palpos com o ultimo articulo e apenas as articulações dos 2 precedentes com escamas brancas; especies de menor porte..... 9
9. (8a) Escamas claras do thorax e das azas principalmente perto da costa de um branco de neve..... *strodei*
- 9a Escamas claras do thorax e das azas de uma côr crême ou amarella..... *albimanus*
10. (2a) Tarsos medios, em geral, sem anneis brancos apicaes; 1º articulo dos tarsos posteriores sem annel branco apical; 2º articulo com a area negra, em geral, muito menos extensa que a area branca..... *argyritarsis*
- 10a Tarsos medios anelados de branco no apice, pelo menos nos 3 primeiros articulos; 1º articulo dos tarsos posteriores com um annel branco apical; 2º com a area negra, em geral, quasi tão extensa ou mais extensa que a area branca apical..... 11
- 11 (10a) Os 2 ultimos segmentos abdominaes revestidos dorsalmente de escamas brancas..... *albitarsis brasiliensis*
- 11a Poucas escamas brancas ou sem taes escamas nos dois ultimos segmentos do abdomen..... 12
- 12 (11a) Annel branco do 2º articulo dos tarsos anteriores mais extenso que o do 3º..... *albitarsis*
- 12a Annel branco do 2º articulo dos tarsos anteriores menos extenso que o do 3º..... *darlingi*
- 13 (1a) Apice do mesosoma com um par de foliolos..... 14
- 13a Mesosoma sem foliolos..... 15
- 14 (13) Foliolos curtos, recurvados e denteados..... *argyritarsis*
- 14a Foliolos longos, quasi rectos, não denteados..... *darlingi*
- 15 (13a) Lobulos dorsaes da pincetta sem pelos..... 16
- 15a Lobulos dorsaes da pincetta com pelos..... 18
- 16 (15) Taes lobulos mais curtos que o mesosoma..... *albitarsis e brasiliensis*
- 16a Taes lobulos mais longos que o mesosoma..... 17
- 17 (16a) Taes lobulos de extremidades arredondadas, com duas expansões vesiculiformes no dorso, antes do apice..... *albimanus*
- 17a Extremidades de taes lobulos expandidas lateralmente em um par de appendices triangulares em forma de orelha..... *bachmanni*
- 18 (15a) Lobulos dorsaes formando uma peça conica, pilosa da base ao apice, a qual apresenta apenas um sulco ou raphe mediana..... *tarsimaculatus e oswaldoi*
- 18a Lobulos dorsaes pilosos somente na base, com 2 largas expansões apicaes, foliaceas, estriadas ou enrugadas longitudinalmente..... *strodei*

LARVAS.

- 1 Labios post. do aparelho opercular dos estigmas com um par de longas cerdas..... *darlingi*

- 1a Labios posteriores do aparelho opercular dos estigmas com cerdas microscópicas. 2
- 2 (1a) Cerdas internas do grupo thoraxico anterior e submediano com o aspecto de tufo palmados. 3
- 2a Taes cerdas com ramificações filamentosas, não achatadas. 6
- 3 (2) Foliolos dos tufo thoraxicos e abdominaes terminados em ponta muito fina. *strodei*
- 3a Taes foliolos cortados na ponta. 4
- 4 (3a) 8a. placa abdominal bem maior que a 7a. *bachmanni*
- 4a 8a. placa abdominal pouco maior que a 7a. 5
- 5 (4a) Cerdas clypeaes medianas mais longas que as lateraes. *albitarsis brasiliensis*
- 5a Cerdas clypeaes medianas quasi tão longas quanto as lateraes *albitarsis*, *tarsimaculatus* e *tarsimaculatus oswaldi*
- 6 (2a) Cerdas clypeaes medianas approximadas. Entre a 1º e 2º placas dorsaes do abdomen um par de cerdas com ramificações filamentosas. *argvritarsis*
- 6a Cerdas clypeaes medianas afastadas. Entre a 1a e a 2a placa dorsaes do abdomen um par de tufo palmados. *albianus*

PUPAS.

- 1 Tubas respiratorias em arginadas profundamente no apice. *darlingi*
- 1a Tubas respiratorias truncadas ou apenas ligeiramente recortadas no apice. 2
- 2 (1a) Espinhos lateraes dos segmentos abdominaes 4-8 muito curtos. *tarsimaculatus oswaldi*
- 2a Espinhos lateraes dos segmentos abdominaes 4-8 curtos e robustos. *tarsimaculatus*
- 2b Espinhos lateraes dos segmentos abdominaes compridos e finos. *argvritarsis*, *albitarsis*, *albitarsis brasiliensis*, *albianus* e *strodei*

Manguinhos, Agosto de 1928.

BIBLIOGRAPHIA

- (1) BLANCHARD, M. R.—Nouvelle note sur les moustiques. C. R. Soc. Biol., 1902, LIV, 795.
- (2) BONNE, C.—Remarques sur des *Cellia* sud-américaines. Bull. Soc. Path. Exot., 1924, XVII, 132-137.
- (3) BONNE, C. e BONNE-WEPSTER, J.—Mosquitoes of Surinam. 1925. Royal Colonial Institute of Amsterdam. Department of Tropical Hygiene.
- (4) BOYD, M. F.—Studies of the epidemiology of malaria in the coastal Lowlands of Brazil made before and after the execution of control measures. Ann. Trop. Med. and Parasit., 1926, VII, 45-100. Reprinted from Amer. Jour. Hyg., Monogr. Ser. n. 6; May. Neste trabalho, feito com a colaboração dos Drs. GENESIO DE SOUZA PINTO, ALVARO ANDRADE, SEBASTIÃO FERREIRA

- PINTO e GUILHERME SILVA, ha tambem uma nota de ROOT sobre as especies de *Anopheles* encontradas na baixada do Brasil.
- (5) BRÈTHES, J.—Algumas notas sobre mosquitos argentinos. An. Mus. Nac. Hist. Nat. Buenos Aires, 1916, XXVIII, 193-218.
 - (6) BRÈTHES, J.—Description provisoire de 2 espèces nouvelles d'anophelines argentins. La Prensa Medica, 1926, XIII, 106.
 - (7) BRÈTHES, J.—Notas sobre los Anophelinos Argentinos. Physis, 1926, VIII, 309-313.
 - (8) CHRISTOPHERS, S. R.—The male genitalia of *Anopheles*. Ind. Jour. Med. Res., 1915, III, 371-394.
 - (9) CHRISTOPHERS, S. R.—Provisional list and reference catalogue of the Anopelini. Ind. Med. Res. Mem., 3, Dec. 1924, 105 pp.
 - (10) COVEL, G.—A critical review of the data recorded regarding the transmission of malaria by the different species of *Anopheles*; with notes on distribution, habits and breeding places. Ind. Med. Res. Mem., 7, July 1927.
 - (11) DAVIS, N. C.—Notes on the female hypophygia of Anopeline mosquitoes, with special reference to some Brazilian species, Amer. Jour. Hyg., 1926, VI, March Suppl. 1-22.
 - (12) DAVIS, N. C.—A consideration of variability in the *Nyssorhynchus* group of the genus *Anopheles*. Amer. Jour. Hyg., 1928, VIII, 359-563.
 - (13) DAVIS, N. C. e SHANNON, R. C.—The habits of *Anopheles rondoni* in the Argentine Republic. Amer. Jour. Hyg., 1928, VIII, 448-456.
 - (14) DYAR, H. G.—The mosquitoes of Americas, Carnegie Institution of Washinton, 1928, Publication n. 387, 616 pp., 18 figs.
 - (15) EDWARDS, F. W.—The nomenclature of the parts of the male hypopygium of Diptera Nematocera, with special reference to mosquitoes. Ann. Trop. and Parasit., 1920, XIV, 23-40.
 - (16) EVANS, A. M.—Notes on Culicidae collected in Venezuela. Ann. Trop. Med. and Parasit., 1921, XV, 445-454.
 - (17) HOWARD, L. O., DYAR, H. G., e KNAB, F.—The mosquitoes of North and Central America and the West Indies, IV, 1917, Carnegie Inst. of Wash., Publication 159.
 - (18) KIRKPATRICK, T. W.—The mosquitoes of Egypt. 1925. Government Press. Cairo.
 - (19) NEIVA, A.—Contribución al estudio de los anofelinos argentinos. Separado de La Semana Médica, 1915, n. 48.
 - (20) NEIVA, A. e BARBARÁ, B.—Mosquitos Argentinos. Buenos Aires, 1917, Imprensa Flaiboy y Camilloni.
 - (21) NEIVA, A. e PINTO, C.—Contribuição para o conhecimento das anophelinas do Estado do Matto-Grosso com a descrição de uma nova especie, 1922, Brazil Medico, Anno 36, Vol. 2, 231-232.



Fig. 9—*N. tarsimaculatus*. Aza.



Fig. 10—*N. tarsimaculatus*.
Parte central da genitalia do macho.

Phots. J. Pinto



Fig. 11—*N. albimanus* Aza.

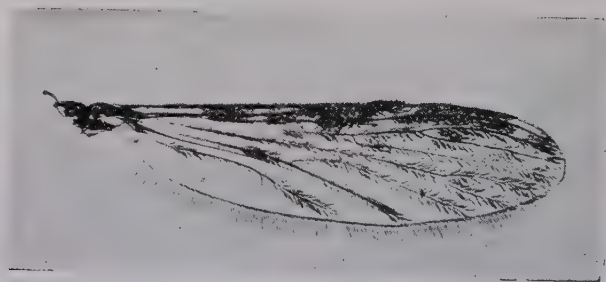


Fig. 12—*N. bachmanni*. Aza.



Fig. 13—*N. bachmanni*.

Parte central da genitalia do macho (exemplar de Campos).



Fig. 14—*N. bachmanni*.
Parte central da genitalia do macho (exemplar de Matto-Grosso).

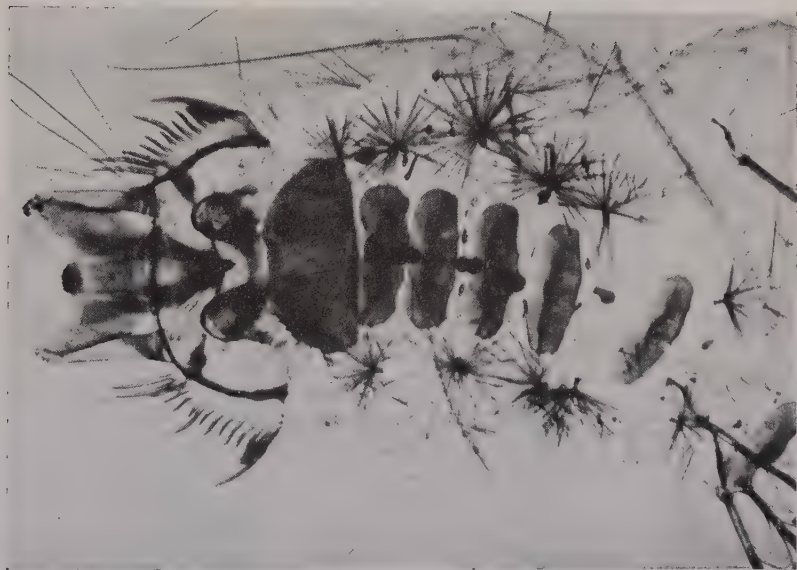


Fig. 15 - Parte da exuvia larval de *N. bachmanni*.



Fig. 16 *N. strodei* Aza.



Fig. 17—Parte central da genitalia de *N. strodei*.

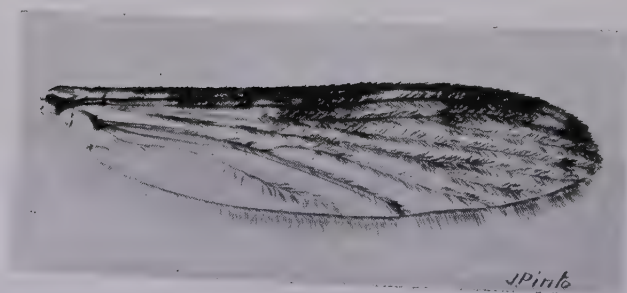


Fig. 18—*N. rondoni* Aza

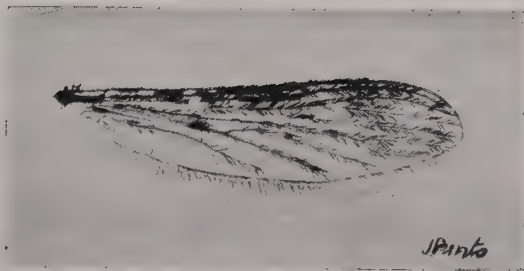


Fig. 19—*N. cuyabensis*. Aza.



Fig. 20—*N. argyritarsis*. Aza.



Fig. 21—Aspecto do mesosoma em *N. argyritarsis*.

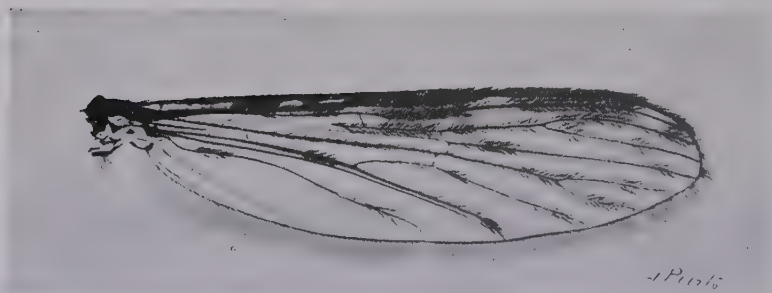
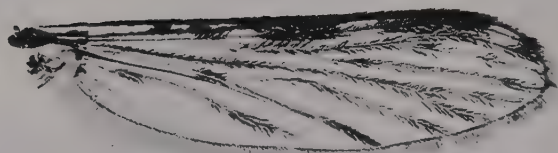


Fig. 22—*N. albitarsis*. Aza.



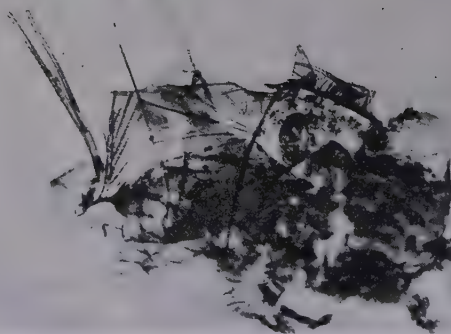
J. Pinto

Fig. 23—*N. albitarsis (brasiliensis)*. Aza.



J. Pinto

Fig. 24—*N. albitarsis (brasiliensis)*. Aza.



J. Pinto

Fig. 25—Parte da exuvia larval de *N. darlingi*.

- (22) NEIVA, A. e PINTO C.—Considerações sobre o genero "Cellia" THEOBALD, com a descripção de uma nova especie. 1922, Brazil Medico, Anno 36, Vol. 2, 355-357.
- (23) NEIVA, A. e PINTO, C.—Sobre uma nova anophelina brasileira "Cellia cuyabensis" nov-sp. Brazil Medico, 1923, Anno 37, Vol. 1, n. 17, 235-236.
- (24) PATERSON e SHANNON.—*Anopheles (Nyssorhynchus) darisi* 3a Reunion Sociedad Argentina de Pathologia Regional del Norte, 1927, 649-658 (não consultado).
- (25) PERYASSU', A. G.—Os culicídeos do Brasil, 1908, 1 vol. Typ. Leuzinger. Rio de Janeiro.
- (26) PERYASSU', A. G.—Os anophelineos do Brasil. Arch. Mus. Mac. Rio de Janeiro, 1921, XXII, 9-104.
- (27) PERYASSU', A. G.—Duas novas espécies de mosquitos do Brasil. A Folha Medica, II, 179.
- (28) PETROCCHI, J.—Anofelino transmissor de malária encontrado em la Capital Federal. Rev. Inst. Bact. Buenos Aires, 1919, II, 295-302.
- (29) PETROCCHI, J.—Las especies argentinas del genero *Anopheles*. Physis, 1923, VII, 139.
- (30) PETROCCHI, J.—Mosquitos transmissores. Dep. Nac. de Hygiene, Buenos Aires, Argentina, 1924, 38 pp.
- (31) PETROCCHI, J.—Descripcion de un nuevo *Anopheles*. Rev. Inst. Bac. Buenos Aires, 1925, IV, 1, 69-75.
- (32) PINTO, C.—Classificação e distribuição geographica dos anophelinós do Novo Mundo. Capítulo do Livro do Prof. MIGUEL COUTO — Impaludismo por autores brasileiros, 1927, 271-277.
- (33) PINTO, G. DE SOUZA.—Sobre um novo methodo de identificação dos anophelineos brasileiros. D. N. S. P. Serviço de Saneamento Rural do Estado do Rio de Janeiro, 1925, Publ. n. 2.
- (34) ROOT, F. M.—The classification of American *Anopheles* mosquitoes. 1922, Amer. Jour. Hyg., II, 321-322.
- (35) ROOT, F. M.—The larvae of American *Anopheles* mosquitoes in relation to classification and identification. Amer. Jour. Hyg., 1922, II, 379-393.
- (36) ROOT, F. M.—The male genitalia of some American *Anopheles* mosquitoes. Amer. Hyg., 1923, III, 264-279.
- (37) ROOT, F. M.—Further notes on the male genitalia of American *Anopheles*. Amer. Jour. Hyg., 1924, IV, 456-465.
- (38) ROOT, F. M.—Studies on brazilian mosquitoes. I. The *Anopheles* of the *Nyssorhynchus* group. Amer. Jour. Hyg., 1926, VI 684-417.
- (39) ROOT, F. M.—Studies on brazilian mosquitoes. II. Chagasia Fajardoi. Amer. Jour. Hyg., 1927, VII, 470-480.
- (40) THEOBALD, V.—The classification of the *Anophelina*. Jour. Trop. Med. and Hyg. (London), 1902, V, 181-183.

Ação dos saes biliares sobre o tracto genital das cobayas.

Pelos Drs. THALES MARTINS e DORIVAL MACEDO.

M. A. GSELL-BUSSE publicou recentemente (1) interessantes observações acerca da influencia do taurocholato de sodio commercial sobre a genitalia dos roedores.

Administrado por injeções subcutaneas diarias, a partir de 5 dias já provoca modificações notaveis nos órgãos sexuaes; nas femeas (o autor trabalhou com ratos, coelhos e cobayas) ha uma accleração no desenvolvimento do utero e vagina, que podem attingir um peso 4 a 13 vezes superior ao dos animaes testemunhas. Reciprocamente, sobre os machos, o taurocholato tem uma acção antimasculina nítida. O peso dos testiculos nos testemunhas é 3 a 4 vezes superior ao dos tratados.

Esses factos são da maior importancia, porque poderiam trazer novos esclarecimentos, ou abrir novas trilhas para pesquisas, no dominio da hormonologia.

Seria necessario verificar si os effeitos correm por conta do taurocholato, ou de impurezas que o acompanhem; e ainda repetir as experiencias com o glychocholato.

Dada a origem dos saes biliares commerciaes, não se comprehende bem que contenham sempre quantidade apreciavel de hormonio ovariano; pouco provavel ainda uma acção directa delles sobre os órgãos genitales. A hypothese mais plausivel seria admittir que nos processos de extracção da bilis, determinadas substancias acompanham os saes, essas dotadas dos effeitos especificos citados. A reciprocidade de acção, isto é, positiva quanto á genitalia feminina, inhibidora sobre a masculina, tenderia a approximal-a do hormonio ovariano, notadamente o Menformon de LAQUEUR (2).

Depois de terminadas as nossas pesquisas, lemos uma nova nota de GSELL-BUSSE (3), relatando que a substancia activa póde ser extrahida pelo ether, da bilis de machos ou de femeas. O sexo do doador não importa nos effeitos. Foi obtida de material provindo de homens e mulheres, e tambem de cães, porcos, bois e vaccas. A bilis de bois e de vaccas contem até 800 U. C.R. (unidades rato) de substancia estrogenica por litro.

O presente trabalho vale por uma verificação de que os saes biliares purificados não têm as propriedades em questão, e portanto directamente não influem nos resultados.

Utilizámos taurocholato e glychocholato de sodio Merck; em solução aquosa a 3 p/o, eram injectados todos os dias subcutaneamente. Os animaes escolhidos foram as cobayas jovens, separados os machos das femeas, ten-

(1) Pflügers Arch. Physiol., 219, p. 626, 1928.

(2) Klin. Woch., 6, 390, 1927.

(3) Klin. Woch., 7, p. 1606, 1928.

do todas a mesma alimentação (capim e farello). Empregámos 56 animais; em vista da mortalidade (como também succedeu a GSELL-BUSSE) terminámos a serie com 20.

Os animais eram finalmente sacrificados com chloroformio, e os órgãos isolados cuidadosamente e pesados com precisão. Os quadros adiante dão os esclarecimentos necessários.

Verifica-se que ha oscillações no peso das visceras, mesmo entre os controles; isso é explicavel pela phase de desenvolvimento em que se encontravam, a phase de crescimento dysharmonico da puberdade.

Na primeira serie, nota-se um atrazo no crescimento da genitalia nos injectados, machos ou femeas, interpretavel pela acção toxica dos saes na ausencia de substancias estimulantes.

Na serie II, foi reduzida a dose de substancia injectada; nessa, em alguns animais o peso do utero e ovarios é pouco superior ao dos controles, enquanto que em outros é nitidamente inferior; mas as oscillações ficam dentro das variações normaes. Nas experiencias de GSELL-BUSSE, a genitalia dos injectados é de 4 a 13 vezes maior que nos controles.

Parece, portanto, licito concluir que os saes biliares, per se, não promovem acções semelhantes á dos hormonios sexuaes.

Qual a natureza da substancia activa existente na bilis?

LOEWE (4) denominou "Thelykininas" as substancias existentes no reino vegetal, com propriedades similares ás do hormonio ovariano, por analogia aos insulinoídes glyckokininas.

DOHRN e BLOTEVOGEL (5) verificaram a presença dessas Thelykininas em sementes de beterraba, raizes de salsa (*Apium petroselinum*), na batata commum e nas cellulas de levedura. A caracterisação é feita com o test de ALLEN e DOISY (estro na camondonga castrada), hoje universalmente adoptado.

De passagem, podemos citar experiencias nossas feitas com o apiol, também chamado camphora de salsa. E' um agente pharmacológico, usado nas desordens menstruaes; dada a circumstancia de se obter o estro na camondonga castrada, pela injectação de extractos da planta, impunha-se verificar si esse corpo também possui propriedades estrogenicas.

Quando se conseguisse, com um composto definido, provocar o cio no animal castrado, haveria duas conclusões importantes a tirar: ou a substancia em questão tem constituição similhante á do hormonio ovariano, ou então o test de ALLEN e DOISY não é específico.

As experiencias foram negativas; mesmo com doses elevadas (3 milg. de apiol branco cristalizado de Merck, por dia); o aspecto histologico do muco vaginal em nada se modificou. Ainda neste caso a substancia activa escapa á verificação chimica.

Podemos concluir que a bilis dos mammiferos é via de excreção de determinadas thelykininas; tratando-se de um humor altamente concentrado, é possível que as thelytropinas vindas com a alimentação ahi atinjam concentrações maiores que na urina. A significação que ellas possam ter na biologia vegetal está ainda por elucidar.

(4) Deut. Med. Woch., 1926, p. 1685.

(5) Med. Klin., 1928, p. 1328.

SERIE I - Cobayos ♀ do todas a mesma alimentação (Empregamos 50 animais em vista da mortalidade (como também sucedeu a GELL-BUSSE) terminamos a serie com 20.

N. de ordem	Peso inicial	Peso final	Peso do útero e ovarios	Peso do fígado	Substancia injectada	N. de injectões	Dose total do tratamento	Duração
8	202	208	145 mg.	6,88 gr.	Glycho.	12	0,74 gr.	16 dias
9	238	352	558 mg.	14,5 gr.	—	—	—	Test.
2	255	302	270 mg.	12,5 gr.	Tauro	12	0,61 gr.	16 dias
			Peso dos testiculos	Cobayos ♂				
2	302	258	162 mg.	11,6 gr.	Tauro	12	0,69 gr.	16 dias
7	141	216	224 mg.	9,2 gr.	—	—	—	Test.
15	235	283	840 mg.	12,6 gr.	—	—	—	Test.

SERIE II - Cobayos ♂ a genitalia dos injectados é de 4 a 13 vezes maior que nos controles. com bastante portancia, lig. dilatações biliares, porcos, não pro- movem accões semelhantes a dos hormônios sexuaes.

N. de ordem	Peso inicial	Peso final	Peso do útero e ovarios	Peso do fígado	Substancia injectada	N. de injectões	Dose total do tratamento	Duração
16	131	157	174 mg.	6,15 gr.	Tauro.	11	0,28 gr.	17 dias
11	158	161	108 mg.	7,85 gr.	Glycho.	11	0,29 gr.	17 dias
17	180	173	205 mg.	7,6 gr.	Tauro.	7	0,21 gr.	13 dias
5	127	187	200 mg.	6,85 gr.	—	—	—	Test.
16	184	193	140 mg.	8,58 gr.	Glycho.	8	0,24 gr.	13 dias
18	178	195	202 mg.	8,16 gr.	Tauro.	8	0,20 gr.	13 dias
9	173	211	216 mg.	7,5 gr.	Glycho.	11	0,29 gr.	17 dias
19	182	211	180 mg.	7,5 gr.	—	—	—	Test.
12	167	227	150 mg.	6,6 gr.	—	—	—	Test.
13	219	318	460 mg.	13,8 gr.	—	—	—	Test.
			Peso dos testiculos	Cobayos ♂				
12	141	132	63 mg.	4,57 gr.	Glycho.	11	0,29 gr.	17 dias
17	123	123	80 mg.	3,83 gr.	—	—	—	Test.
16	175	204	113 mg.	6,3 gr.	Tauro.	8	0,20 gr.	13 dias
11	150	217	210 mg.	6,5 gr.	—	—	—	Test.

Podemós concluir que a bilis dos mamíferos é vis de excreção de determinadas thelykoinas; tratando-se de um humor altamente concentrado, é possível que as thelykopinas vindas com a alimentação ali estejam em concentrações maiores, que na urina. A significação que ellas possam ter na biologia vegetal está ainda por elucidar.